

UNIVERZITA KARLOVA V PRAZE

Přírodovědecká fakulta

Katedra zoologie

Studijní program: Biologie

Studijní obor: Zoologie



Bc. Jakub Vitáček

**ŠÍŘENÍ KUDLANKY NÁBOŽNÉ (*MANTIS RELIGIOSA*)
V EVROPĚ**

SPREADING OF PRAYING MANTIS (*MANTIS RELIGIOSA*) IN EUROPE

Diplomová práce

Vedoucí práce: Mgr. Petr Janšta, Ph.D.

Praha, 2016

Prohlášení

Prohlašuji, že jsem tuto magisterskou práci zpracoval samostatně a že jsem uvedl všechny použité informační zdroje a literaturu. Tato práce ani její podstatná část nebyla předložena k získání jiného nebo stejného akademického titulu.

V Praze dne 2. 5. 2016

.....

Jakub Vítáček

Poděkování

Chtěl bych poděkovat především svému školiteli Petrovi Janštovi za pomoc a rady při sepisování této diplomové práce. Upřímné poděkování patří Petrovi rovněž za velkou podporu v nelehkých situacích vznikajících nejen v souvislosti s řešením této práce. Dále děkuji všem, kteří se podíleli na sběru vzorků v terénu, mezi něž patří zejména (abecedně bez titulů): Jiří Hadrava, Daniel Jablonski, Petr Janšta, David Král, Jozef Lukáš, Michael Mikát, Hana Parčová, Michal Rindoš, Petr Šípek, František Šťáhlavský, Dominik Vondráček. Haně Parčové, Michaelovi Mikátovi a Daně Drožové patří rovněž dík za to, že mě naučili laboratorním postupům. Michael Mikát a Kateřina Černá významně pomohli se zpracováním mikrosatelitových dat. Děkuji Lucii Jakešové za pomoc se zpracováním mapových podkladů a analýzami v programech ArcGIS a Maxent. Catherine Anne Linn děkuji za spolupráci při výměně vzorků z oblasti západní Evropy. Děkuji svým rodičům a rodině za podporu v celém průběhu mého studia. Tato práce vznikla za finanční podpory Grantové agentury Univerzity Karlovy GAUK 684412.

| | |
|---|----|
| Abstrakt | 7 |
| Abstract | 8 |
| 1 Úvod a cíle..... | 9 |
| 2 Literární přehled | 11 |
| 2.1 Kudlanka nábožná..... | 11 |
| 2.2 Biologie kudlanky nábožné..... | 12 |
| 2.2.1 Rozmnožování..... | 12 |
| 2.2.2 Stanovištní nároky | 13 |
| 2.2.3 Schopnosti šíření | 13 |
| 2.2.4 Výskyt kudlanky nábožné v České republice a přilehlých zemích ... | 14 |
| 2.3 Současné rozšiřování areálu u hmyzu | 16 |
| 2.4 Kvartérní biogeografie | 18 |
| 2.4.1 Klima během kvartéru | 18 |
| 2.4.2 Refugia | 18 |
| 2.4.3 Postglaciální šíření z refugií | 19 |
| 2.4.3.1 Model saranče (<i>Chorthippus parallelus</i>) | 19 |
| 2.4.3.2 Model ježek (<i>Erinaceus</i> spp.) | 20 |
| 2.4.3.3 Model medvěd hnědý (<i>Ursus arctos</i>) | 20 |
| 3 Materiál a metodika..... | 22 |
| 3.1 Materiál | 22 |
| 3.2 Mitochondriální geny | 28 |
| 3.2.1 Izolace DNA..... | 28 |
| 3.2.2 Amplifikace DNA | 28 |
| 3.2.3 Elektroforéza | 31 |
| 3.2.4 Purifikace DNA..... | 31 |
| 3.2.5 Sekvenace DNA | 31 |
| 3.2.6 Editace sekvencí | 32 |

| | | |
|---------|---|----|
| 3.2.7 | Analýza dat..... | 32 |
| 3.2.7.1 | Maximum likelihood | 32 |
| 3.2.7.2 | Bayesovská analýza..... | 32 |
| 3.2.7.3 | Odhady divergence | 33 |
| 3.2.7.4 | Haplotypová síť | 33 |
| 3.2.7.5 | Populační struktura | 33 |
| 3.3 | Mikrosatelity | 35 |
| 3.3.1 | Izolace DNA pro analýzu mikrosatelitů | 38 |
| 3.3.2 | Amplifikace DNA – testování primerů | 38 |
| 3.3.3 | Elektroforéza | 39 |
| 3.3.4 | Denaturace a fragmentační analýza..... | 40 |
| 3.3.5 | Multiplex primerů..... | 40 |
| 3.3.6 | Analýza dat..... | 41 |
| 3.3.6.1 | Editace výstupu fragmentační analýzy | 41 |
| 3.3.6.2 | Základní charakteristiky | 42 |
| 3.3.6.3 | Populační struktura | 42 |
| 3.4 | Modelování rozšíření | 44 |
| 3.4.1 | Model MaxEnt..... | 44 |
| 4 | Výsledky..... | 45 |
| 4.1 | Analýza mitochondriálních genů | 45 |
| 4.1.1 | Vstupní data..... | 45 |
| 4.1.2 | Fylogenetické analýzy | 47 |
| 4.1.2.1 | Analýza Maximum Likelihood..... | 47 |
| 4.1.2.2 | Bayesovská analýza | 51 |
| 4.1.3 | Haplotypová diverzita | 55 |
| 4.1.4 | Výpočet genetické distance | 59 |
| 4.1.5 | Haplotypová síť | 59 |

| | | |
|-------|--|----|
| 4.1.6 | Populační struktura | 61 |
| 4.2 | Analýza mikrosatelitů | 65 |
| 4.2.1 | Vstupní data | 65 |
| 4.2.2 | Základní populační charakteristiky | 69 |
| 4.2.3 | Analýza Structure | 72 |
| 4.3 | Modelování rozšíření | 74 |
| 5 | Diskuze | 77 |
| 5.1 | Mitochondriální geny | 77 |
| 5.1.1 | Fylogenetické analýzy | 77 |
| 5.1.2 | Haplotypová diverzita | 78 |
| 5.1.3 | Populační struktura | 79 |
| 5.2 | Mikrosatelity | 80 |
| 5.2.1 | Populační charakteristiky | 80 |
| 5.2.2 | Analýza Structure | 81 |
| 5.3 | Modelování rozšíření | 81 |
| 5.4 | Glaciální refugia a postglaciální šíření | 82 |
| 6 | Závěr | 84 |
| 7 | Literatura | 85 |
| 8 | Seznam příloh | 96 |

Abstrakt

Klimatické změny jsou jedním z hlavních faktorů určujících rozšíření živočichů. V Evropě jsme svědky šíření severním směrem u mnoha druhů hmyzu, které mají hlavní centrum rozšíření v mediteránní oblasti. Jedním z nich je i kudlanka nábožná (*Mantis religiosa*). Jde o jediný druh řádu Mantodea, který se vyskytuje i ve střední Evropě. Severní okraj evropského výskytu v současnosti prochází zhruba podél 53. rovnoběžky a právě zde tedy lze pozorovat jevy probíhající na okraji areálu. Ačkoliv jde o dobře známý druh, nebylo dosud věnováno mnoho pozornosti studiu jeho fylogeografie. Pro studium fylogeneze kudlanek nábožných byly zvoleny úseky tří mitochondriálních genů COI, COII a Cyt b. Výsledky provedených analýz ukazují tři statisticky dobře podpořené linie kudlanek v Evropě, které pravděpodobně odpovídají třem glaciálním refugiím, do nichž byly kudlanky zatlačeny v době posledního glaciálu a z nichž se po jeho skončení následně rozšířily. Jde o linii východoevropskou, západoevropskou a středoevropskou. Nízká haplotypová diverzita v populacích na severním okraji rozšíření ukazuje na nově vzniklé populace. Kvůli odlišnému typu dědičnosti jaderné a mtDNA byla zvolena též analýza čtyř mikrosatelitových lokusů, aby bylo možné porovnat výsledky získaných na nezávislých zdrojích genetických dat. Studium mikrosatelitové DNA v hlavních rysech podporuje závěry získané na mitochondriálních datech. Je patrné genetické odlišení jedinců z východní, západní a střední Evropy. Provedené modelování rozšíření na základě klimatických dat pomocí programu MAXENT též potvrdilo možné přežívání kudlanek v oblastech na pobřeží Středozemního a Černého moře a na středomořských ostrovech.

Klíčová slova: *Mantis religiosa*, fylogeografie, glaciální refugia, okraj areálu, šíření, mtDNA, mikrosatelity, MAXENT

Abstract

Climate change is one of the most important factor determining species ranges. In Europe there is now evidence for northward areal expansion in many Mediterranean insects including the praying mantis (*Mantis religiosa*). This species is the only representative of the order Mantodea inhabiting central Europe. The northern edge of the species distribution currently reaches latitude 53° North. Although, the praying mantis is well known insect there is not enough evidence about its phylogeography. In this work three mitochondrial genes (COI, COII, Cyt b) were selected for phylogenetic study. Results indicate three statistically supported distinct lineages in Europe: Eastern European, Central European and Western European. Presumably these lineages are consistent with isolation during the last glacial and re-colonization from glacial refugia. Reduced haplotype diversity on the northern edge suggests currently established populations at the northern distribution border. To validate mtDNA results it was also considered four microsatellite loci. Due to different type of inheritance mtDNA and nuclear DNA it is possible to compare two independent genetic datasets. Microsatellite analysis confirmed results obtained on mitochondrial data. Three major genetic clusters were found: east, west and central. Spatial distribution modelling in MAXENT software based on climatic suitability was also executed. Based on the results one can assume that the praying mantis survived the last glacial period on the Mediterranean and Black sea coast and islands.

Keywords: *Mantis religiosa*, phylogeography, glacial refugia, range margin, spreading, mtDNA, microsatellites, MAXENT

1 Úvod a cíle

Kudlanka nábožná (*Mantis religiosa*) je nezaměnitelným prvkem evropské fauny. Je široce rozšířena téměř po celém světě, v rámci Evropy leží těžiště výskytu v mediteránní oblasti (Battiston et al. 2010). V posledních desetiletích je však u tohoto druhu v Evropě zaznamenána tendence k posunu severního okraje areálu (Janšta et al. 2008). Dosud však bylo věnováno málo pozornosti studiu genetické struktury tohoto druhu, je k dispozici pouze diplomová práce Mgr. Hany Parčové (Urbánková 2012), která byla zaměřena především na oblast střední Evropy. Původ kudlanek v Německu pak studuje práce Linn a Griebeler (2015). Rozsáhlejší analýza v rámci celého evropského kontinentu však doposud chybí.

Tato diplomová práce navazuje na diplomovou práci Mgr. Hany Parčové (Urbánková 2012). Díky úsilí mnoha sběratelů se od vzniku citované práce podařilo značně rozšířit materiál získaný na širokém území od Maroka po Gruzii. Kombinací moderních metod analýzy mtDNA a mikrosatelitů s modelováním rozšíření podle klimatických podmínek se tato diplomová práce snaží objasnit fylogeografii kudlanek a přispět tak k málo prozkoumanému aspektu biologie tohoto široce známého druhu. Základní poznatky již byly shrnuty v článku Vitáček a Janšta (2016).

Cíle práce:

- Nashromáždit dostatečné množství vzorků jedinců *Mantis religiosa* (Linneaus, 1958) z oblasti jejího současného rozšíření v Evropě a případně přilehlých oblastech.
- Osekvenovat úseky tří mitochondriálních genů – cytochrom oxidázy I (COI), cytochrom oxidázy II (COII) a cytochromu b (Cyt b).
- Provést analýzu sekvencí mtDNA ke zjištění genetické struktury *M. religiosa* ve zkoumané oblasti.
- Otestovat funkčnost dříve navržených primerů a sestavit jejich multiplex vhodný k amplifikaci mikrosatelitových lokusů.
- Analyzovat mikrosatelitovou DNA ze všech jedinců a výsledky porovnat s daty získanými analýzou mtDNA.
- Na základě známých lokalit, na nichž se v současnosti *M. religiosa* vyskytuje, sestavit model dnešního rozšíření tohoto druhu v uvažované oblasti a modelovat rozšíření v době holocenního optima a posledního glaciálního maxima.

2 Literární přehled

2.1 Kudlanka nábožná

Kudlanka nábožná (*Mantis religiosa* (Linnaeus, 1758)) je dobře známým zástupcem řádu Mantodea. Tento řád je podle současných poznatků monofyletický (Svenson a Whiting 2009) a společně se šváby (Blattoptera) a termity (Isoptera) tvoří skupinu Dictyoptera. Recentně bylo opět potvrzeno, že Mantodea jsou sesterskou skupinou k řádu Blattoptera, přičemž Isoptera jsou vnitřní skupinou švábů (Legendre et al. 2015). V rámci řádu Mantodea patří kudlanka nábožná do čeledi Mantidae, která je však podle dřívějších (Svenson a Whiting 2004) i nejnovějších (Legendre et al. 2015) poznatků parafyletická.

Rod *Mantis* (Linnaeus, 1758) zahrnuje celkem 15 druhů, kromě výše jmenovaného jsou to: *M. beieri* (Roy, 1999), *M. callifera* (Wood-Mason, 1882), *M. carinata* (Cosmovici, 1888), *M. dilaticollis* (Gistel, 1856), *M. emortualis* (Saussure, 1869), *M. griveaudi* (Paulian, 1958), *M. indica* (Mukherjee, 1995), *M. insignis* (Beier, 1954), *M. macroalata* (Lindt, 1973), *M. macrocephala* (Lindt, 1974), *M. octospilota* (Westwood, 1889), *M. pia* (Serville, 1839), *M. religiosa* (Linné, 1758), *M. splendida* (de Haan, 1842), *M. tricolor* (Linné, 1767).

Mimo druhu *M. religiosa* se však žádný ze zmíněných druhů nevyskytuje v Evropě ani blízkých oblastech (Battiston et al. 2010).

V rámci druhu *M. religiosa* rozlišil Bazyluk (1960) celkem 7 poddruhů, z nichž dva se vyskytují v Evropě. Jsou to *M. religiosa religiosa* (Linnaeus, 1758) vyskytující se v jižní a střední Evropě a *M. religiosa polonica* (Bazyluk, 1960), která se podle autora vyskytuje v Polsku, Rakousku a evropské části Ruska. Kočárek (2005) a Vidlička (2001) však toto rozdělení zpochybňují.

Kudlanka nábožná je morfologicky snadno rozlišitelný druh (viz Obr. 2.1). Zbarvení je velmi rozmanité, nejčastěji se vyskytují jedinci zelení a hnědí (Battiston a Fontana 2010). Velikost je taktéž velmi rozmanitá, obecně jde o spíše větší druh (v dospělosti přibližně 50 milimetrů samci a 75 milimetrů samice). Spolehlivým určovacím znakem je přítomnost černé skvrny na bázi předních končetin, uprostřed této skvrny se u některých

jedinců může vyskytovat menší bílá nebo žlutá skvrna (Battiston et al. 2010). Pohlaví jsou v dospělosti snadno odlišitelná – samice je zřetelně větší než samec, u kterého se navíc vyskytuje na abdomenu pár styletů (Battiston et al. 2010).

Obrázek 2.1 Zelená forma samice *Mantis religiosa* z lokality NPR Švařec; foto: Petr Janšta



2.2 Biologie kudlanky nábožné

2.2.1 Rozmnožování

Rozmnožování probíhá zpravidla koncem léta a začátkem podzimu, kdy jsou kudlanky již plně pohlavně dospělé. Samice kudlanek nábožných klade vajíčka do oothéky. V tomto vaječném obalu může být až 200 vajíček. Obvykle je oothéka odkládána na chráněná místa, jako jsou větve, pod kameny nebo na stébla silnějších trav či stonky

bylin. Zimu přečkávají pouze vajíčka chráněná v oothéce, dospělí jedinci s příchodem chladného počasí hynou (Battiston et al. 2010). Protože se na mnoha lokalitách vyskytují pouze samice, uvažuje se o tom, že je tento druh schopen partenogenetického rozmnožování (Hideg 1996; Chládek 1998). Přesvědčivé důkazy pro partenogenezi však doposud chybí.

2.2.2 Stanovištní nároky

Kudlanka nábožná je druhem obývajícím obvykle otevřené lokality stepního charakteru. V souvislosti s jejím výskytem je zajímavé zmínit, na jakých lokalitách se vyskytuje v oblastech severního okraje evropského areálu. Podle Liana (2007) jsou pro kudlanku v Polsku tradičním biotopem mýtiny v borových lesích, případně okraje takových lesů. Protože právě lesní okraje poskytují vhodné mikroklima tím, že zmírňují kontinentalitu podnebí místní lokality. Šíření kudlanky v Polsku bylo také umožněno významným rozšíření neobdělávané půdy. Battiston a Fontana (2010) zjistili, že se kudlanky velmi často zdržují v blízkosti nebo přímo na keřích rodu *Rubus* sp. V této souvislosti diskutují, že husté a trnité keře chrání jedince před velkými predátory a zároveň jsou atraktivní pro jiné druhy hmyzu, které slouží kudlankám jako kořist. Právě přítomnost travnatých biotopů s občasnými keřovými porosty v oblastech s vhodnými klimatickými podmínkami je podle autorů jednou z příčin širokého rozšíření tohoto druhu ve světě.

2.2.3 Schopnosti šíření

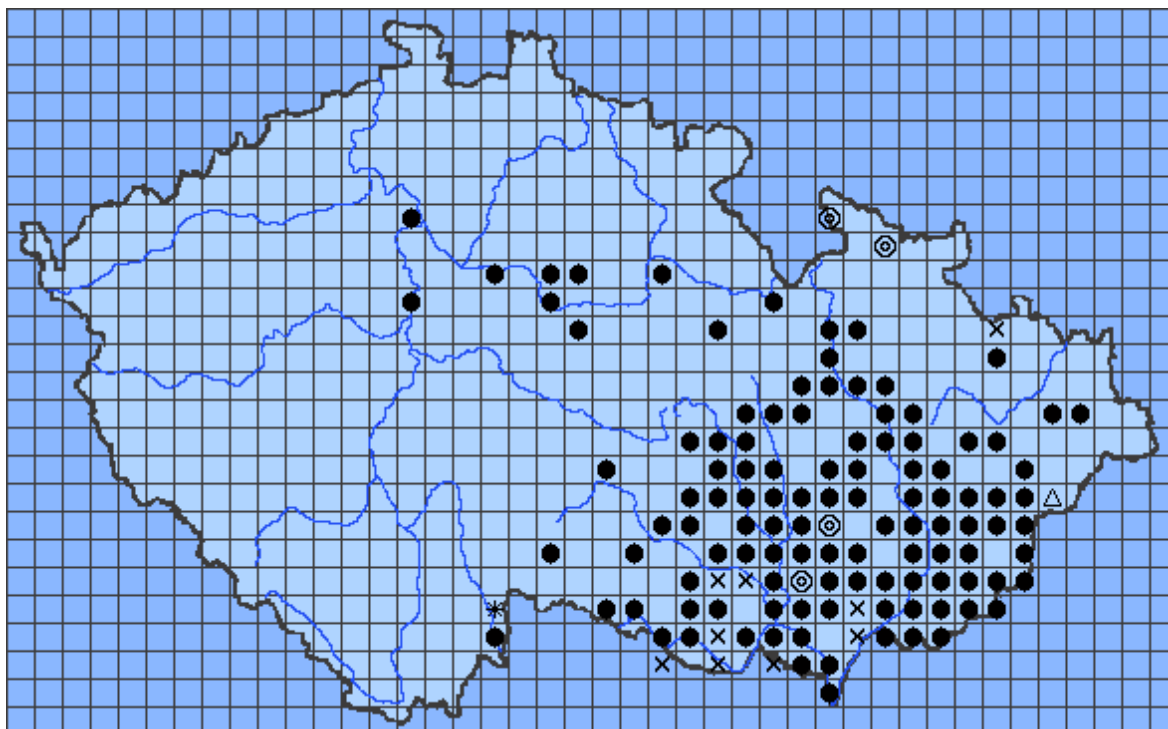
Schopnosti aktivního šíření kudlanek jsou pravděpodobně dosti omezené. Z pozorování (Chládek 1998) vyplývá, že samci při vyrušení přeletují, ale jen na krátké vzdálenosti a samice se spíše snaží schovat se ve vegetaci. Tendenci k přesunům v rámci jedné lokality sledovali pomocí odchyty také Battiston a Fontana (2010). Zjistili, že průměrné vzdálenosti se pohybují pouze v řádech metrů a jsou obecně vyšší v otevřených habitatech než v blízkosti keřových porostů. Podle studie Liana (2007) se jednotliví jedinci značně liší v migračních schopnostech a je dokonce možné, že se v rámci populace vyskytují jedinci s různou morfologickou a fyziologickou predispozicí k dálkovým migracím. Podle autorky jsou však hlavními druhy šíření pasivní způsoby. Především zdůrazňuje význam oothék v pasivním transportu. Ty jsou podle jejích úvah velmi často přenášeny nevědomky člověkem, nejčastěji přilepené na trávě (transport sena), se

sazenicemi stromků, na dřevě stromů (do pil). Zajímavým způsobem pasivního šíření dospělců by mohl být neúmyslný převoz dopravními prostředky (tzv. hitch-hiking) (Chládek 1998). Takový způsob šíření se objevuje např. u kobyly jižní (Vlk et al. 2012). V případě *M. religiosa* by tento druh pasivního přenosu vysvětloval výskyt jedinců v blízkosti železničních koridorů (Janšta et al. 2008). Podle Chládek (1998); Liana (2007) rovněž nelze vyloučit úmyslnou introdukci jedinců chovaných v zajetí. V kontextu šíření je důležitý záznam o výskytu kudlanky v Lotyšsku (Pupiňš et al. 2012). Práce popisuje záznam čtyř oplodněných samic v letech 2008 a 2010. Diskuze v článku se věnuje způsobu, jakým se kudlanky dostaly do oblasti tak vzdálené od míst přirozeného výskytu. Autoři vylučují možnost, že by mohly být kudlanky vypuštěny místními chovateli. Také možnost neúmyslného transportu je podle autorů nepravděpodobná. Zdůrazňují totiž, že k nálezům došlo v relativně krátkém časovém rozmezí na poměrně velké ploše. Naopak se přiklání k možnosti, že tito jedinci sem byli zaneseni s větrem pravděpodobně s letní bouřkou.

2.2.4 Výskyt kudlanky nábožné v České republice a přilehlých zemích

Kudlanka nábožná je jediným druhem z řádu Mantodea rozšířeným ve střední Evropě. Centrum jejího výskytu v rámci Evropy je mediteránní oblast. V současné době je kudlanka nábožná společně s druhem *Iris oratoria* pravděpodobně nejrozšířenějším druhem kudlanky v Evropě (Battiston et al. 2010). V České Republice je *M. religiosa* dlouhodobě známa především z nejteplejších oblastí na jižní Moravě (Čaputa 1992). V posledních několika desetiletích však přibývají doklady o šíření jejího areálu na sever. V současnosti pokrývají lokality jejího výskytu téměř celou Moravu a jsou známy i lokality ze Slezska (Chládek 1998; Hanák a Hudeček 2001), viz Obr. 2.2. V Čechách pak byly jednotlivé záznamy kudlanek zaznamenány na lokalitách v Kolíně, Praze na Kavčích horách, Vehlovicích na Mělnicku a v Žehuňské oboře u Chlumce nad Cidlinou (Janšta et al. 2008). Autoři rovněž uvádějí lokalitu Přerovská hůra u Přerova nad Labem, kde se dodnes vyskytuje (osobní sdělení od Petra Janšty) stabilní populace. V České Republice je kudlanka nábožná vedena jako zranitelný druh (Janšta et al. 2006) a probíhá zde mapování jejího výskytu (Chobot 2016).

Obrázek 2.2 Výskyt *Mantis religiosa* na území ČR; Legenda: ● - stálý výskyt, △ - introdukovaný, × - pozorován do roku 1960, * - pozorován do roku 1980, ⊕ - pozorován do roku 2000; podle Chobot (2016)



Podobný trend v šíření *M. religiosa* jako v České Republice je dokumentován i v ostatních zemích na severní hranici areálu. V Německu se populace kudlanek vyskytují dlouhodobě v jihovýchodní části země (Bádensko-Württembersko) (Berg et al. 2011). V současnosti jsou však byly zaznamenáni jedinci v severněji položeném Braniborsku (Landeck et al. 2013). Původ nově vzniklých německých populací na okraji areálu studovaly Linn a Griebeler (2015). Podle jejich výsledků pocházejí západoněmecké populace kudlanek z východní Francie, naopak původ populací ve východním Německu lze hledat v České Republice, odkud se do Německa dostaly pravděpodobně údolím Labe. Také z jižního Polska jsou známy stabilní populace (Liana 2007). Ačkoliv byly ojedinělé nálezy zaznamenány také v Lotyšsku (Pupiņš et al. 2012), podle autorů se nezdá pravděpodobné, že zde existuje stabilní populace.

2.3 Současné rozšiřování areálu u hmyzu

V souvislosti se změnou klimatu je nejčastěji studovanou proměnnou měnící se teplota vzduchu a její vliv na organismy, ačkoliv tento pojem obecně zahrnuje široké spektrum faktorů (Robinet a Roques 2010). Změny teploty jsou jednou z hlavních příčin změn rozšíření u mnoha druhů organismů (Root et al. 2003). Zmíněná studie analyzuje dostupné práce týkající se areálových změn u širokého spektra živočichů i rostlin v souvislosti s globálním oteplováním. Podle výsledků je právě změna teploty důležitou příčinou areálových změn a navíc lze u více než 80 % analyzovaných druhů dobře odhadovat směry šíření pouze na základě znalosti jejich fyziologických nároků. Podobné výsledky přináší také studie Parmesan a Yohe (2003), podle které se hranice areálů posouvají směrem, který lze odhadovat právě na základě změny klimatu. Rovněž je zřejmé, že změny klimatu jsou příčinou mnoha dalších ekologických změn, jako jsou fenologické posuny, změny složení celých společenstev, biologické invaze, změny v trofických úrovních apod. (Walther et al. 2002).

V rámci hmyzu je patrně nejlépe prozkoumanou skupinou řád motýlů. Studium změn jejich rozšíření a poklesu jejich početnosti bylo věnováno mnoho pozornosti např. v Thomas et al. (2004), Parmesan et al. (1999) nebo výše zmíněná práce Parmesan a Yohe (2003). Vzniká proto otázka, zda výsledky získané pro dobře známé taxonomické skupiny (kromě motýlů zejména ptáci) dobře reprezentují trendy i v jiných skupinách. Tím se zabývá Hickling et al. (2006). V této studii analyzují změny v rozšíření u více skupin živočichů (z hmyzu jsou to kromě motýlů zástupci vážek, rovnokřídlých, sít'okřídlých, brouků a ploštic). Výsledky naznačují, že ve Velké Británii dochází od roku 1960 k rozšiřování areálu studovaných druhů severním směrem. Rychlost tohoto šíření je přitom srovnatelná s dříve dokumentovanými skupinami, v některých případech probíhá dokonce ještě rychleji.

V Evropě je známo mnoho hmyzích druhů, jejichž centrum rozšíření se nachází v mediteránní oblasti a v posledních desetiletích je zaznamenáván posun severní hranice jejich výskytu. Mezi dobře prostudované příklady šíření hmyzích druhů souvisejících s globálním oteplováním patří např. bourovčík jižní (*Thaumetopoea pityocampa*) (Battisti et al. 2005). Autoři studie u tohoto motýla prokázali zvýšené přežívání housenek díky zvýšené teplotě v zimním období. Globální oteplování jako prvotní příčinu šíření tohoto druhu potvrdil rovněž model šíření sestavený autory Robinet et al. (2014). Ti navíc upozorňují, že vhodné klimatické podmínky pro tento druh existují i v severnějších oblastech a v současnosti je proto rychlost šíření bourovčíka omezena především jeho disperzními schopnostmi.

Dalším příkladem druhu šířícího se z mediteránní oblasti je cvrčivec révový (*Oecanthus pellucens*) (Fedor a Majzlan 2001). Šíření cvrčivce je možné sledovat i na našem území (Trnka a Rada 2015). Dalším rovnokřídlým, u něhož je patrná podobná tendence, je kobylka jižní (*Meconema meridionale*). Záznamy o výskytu v České republice popisují (Vlk et al. 2012). Liana a Michalcewicz (2014) pak publikovali první záznam o výskytu tohoto druhu v Polsku. Obdobný trend lze dále sledovat např. u kobylky křídlaté (*Phaneroptera falcata*) (Kočárek et al. 2008; Böhme et al. 2011). Tato kobylka dnes zasahuje svým rozšířením až do Lotyšska, kde vytváří stabilní populace (Ivinskis a Rimšaitė 2008; Budrys a Budrien 2012). Jak je z předchozího výčtu patrné, není kudlanka nábožná ojedinělým případem termofilního druhu hmyzu, jehož severní hranice výskytu se posouvá do vyšších zeměpisných šířek.

Ačkoliv jsou výše jmenované příklady šíření mediteránních druhů dávány do souvislosti s recentním globálním oteplováním klimatu, je třeba uvažovat o holocenních (viz dále) klimatických výkyvech jako celku (Aspöck 2008). Autor zdůrazňuje, že mnohé druhy, které dnes považujeme za nově se šířící, nejsou ve skutečnosti zcela novými prvky na těchto územích. Místo toho zde mohly být přítomny v klimaticky příhodných obdobích holocénu a v době ochlazení se pouze stáhly na lokality, kde přečkaly nepříznivé podmínky. Z těchto míst pak dnes znovu kolonizují severněji položené oblasti. Jedním z takových míst mohla být podle autora oblast jihozápadního Německa.

2.4 Kvartérní biogeografie

2.4.1 Klima během kvartéru

Začátek čtvrtohor (kvartér) je v současnosti datován do doby před 2,588 miliony let a toto období je dále rozdělováno na tzv. pleistocén (2,588 - 0,0117 milionu let před dneškem) a holocén (od 11,7 tisíce let po dnešek) (Cohen et al. 2013). Období čtvrtohor je charakterizováno celkovým výrazným ochlazením klimatu (v angličtině se proto někdy označuje jako Quaternary Ice Age). Během tohoto dlouhodobého ochlazení klimatu se pak střídaly období chladnější a teplejší, tzv. glaciály a interglaciály (Webb a Bartlein 1992). Výše zmíněný holocén je poslední interglaciál. Počet proběhlých glaciálních/interglaciálních cyklů je dodnes nejasný. Poslední glaciál měl důležitý vliv na podobu dnešní evropské fauny i flóry. Toto období začalo před přibližně 116 000 lety (Kukla et al. 2002) a největší zalednění se datuje do doby přibližně 26 500 – 19 000 před dneškem (Clark et al. 2009). Evropská fauna i flóra byly v důsledku tohoto chladného klimatu značně pozměněna oproti dnešku (Hewitt 1999). Obecně se soudí, že mnohé druhy z vyšších zeměpisných šířek byly pravděpodobně zatlačeny do jižních oblastí Evropy, které jim nabízelo vhodnější klimatické podmínky a kde tedy mohly přežít chladné glaciální období. Po skončení posledního glaciálního cyklu a nástupu interglaciálu, nastaly příznivé podmínky pro šíření živočichů i rostlin severním směrem (Taberlet et al. 1998; Hewitt 1999).

2.4.2 Refugia

Je důležité, že většina evropských pohoří má víceméně rovnoběžkový směr (Kantaberské pohoří, Pyreneje, Alpy, jižní Karpaty) a rovněž Středozemní a Černé moře probíhají v tomto směru. Protože pohoří i moře představují pro většinu druhů významnou bariéru, jejich šíření bylo zmíněnou polohou jistě výrazně ovlivněno (Hewitt 1999). Podle klasických představ se tak druhy musely stáhnout do oblastí poloostrovů Pyrenejského, Apeninského a/nebo Balkánského (Hewitt 1996, 1999).

2.4.3 Postglaciální šíření z refugií

Ačkoliv různé druhy vykazují unikátní znaky šíření z oblastí glaciálních refugií, lze i přesto mezi nimi vysledovat jisté podobnosti. To postupně vedlo k zavedení definice tří vzorů šíření, které se často opakují v případě živočichů i rostlin (Hewitt 1999). Tyto modely jsou dnes v kontextu evropské biogeografie chápány jako klasická paradigmatata, sloužící ke srovnávání s nově studovanými organismy. Schematické znázornění představ o šíření je na Obr. 2.3.

Obrázek 2.3 Scénáře šíření z glaciálních refugií; převzato a upraveno z Hewitt 2001



2.4.3.1 Model saranče (*Chorthippus parallelus*)

Šíření tohoto druhu popsali Cooper et al. (1995). Autoři této práce identifikovali pět oblastí, které zahrnovaly unikátní haplotypy a tedy pravděpodobně odpovídaly glaciálním refugiím. Šlo o území Turecka, Řecka, Itálie, Španělska a balkánského poloostrova (linie oddělená od řecké). Šíření z glaciálních refugií probíhalo v tomto případě podle následujícího scénáře. V postglaciální expanzi se uplatnila pouze balkánská linie, která se významně rozšířila severním směrem. V důsledku toho lze vysvětlit pozorovanou shodu mezi haplotypy ze severněji položených oblastí Evropy a právě jedinců z balkánského poloostrova. Linie z Itálie a Španělska se nedostaly z poloostrovů, neboť jim v tom účinně zabránilo pohoří Alp, respektive Pyrenejí. Výsledky potvrzuje i práce Lunt et al. (1998), jejíž autoři připomínají polohu zmíněných pohoří. Alpy respektive Pyreneje (na rozdíl od Karpat) tvoří geografickou bariéru pro případné migrační trasy z Iberijského respektive

Apeninského poloostrova. Lunt et al. (1998) diskutují, že zmíněná saranče se běžně nevyskytuje v polohách nad 2000 m a nemohla se tedy šířit přes stále zaledněné Pyreneje a Alpy, i když za těmito pohořími pro ni mohly již být vhodné podmínky. Novější výzkumy (Korkmaz et al. 2014) však výše zmíněný scénář poněkud modifikují. Podrobnější studie Anatolie totiž ukázala na těsnou spojitost mezi touto oblastí a balkánským poloostrovem. Výsledky dokonce ukazují, že zdrojem dnešní diverzity evropských sarančí není balkánské refugium ale právě oblasti dnešního Turecka.

2.4.3.2 Model ježek (*Erinaceus* spp.)

V Evropě se dnes vyskytují dva druhy ježků, jedná se o ježka východního (*Erinaceus concolor*) a ježka západního (*Erinaceus europaeus*). Tyto dva druhy se setkávají v oblasti střední Evropy v severojižním směru od Baltského po Jaderské moře. Postglaciální šíření v tomto případě probíhalo z refugií na Iberijském, Apeninském a Balkánském poloostrově (Santucci et al. 1998). Tedy Alpy ani Pyreneje nepředstavovaly pro ježka významnou bariéru. I dnes se ježek východní v oblasti Kavkazu vyskytuje až do nadmořských výšek 2 500 m (Corbet 1988). Kavkaz však pro něho představuje významnou bariéru, kterou pravděpodobně nedokázal překročit, neboť na obou stranách pohoří se vyskytují dvě oddělené linie (Seddon et al. 2002). Zdrojem pro dnešní populace ježka v Rusku a na severní straně Kavkazu tak bylo balkánské refugium, zatímco populace jižně od Kavkazu vznikly z refugií někde v oblasti Turecka a/nebo Blízkého Východu. Zahrnutím jaderných markerů (MHC komplex) se však podařilo získat poněkud odlišné výsledky, které výše zmíněnou hypotézu o šíření nepotvrzují (Berggren et al. 2005)

2.4.3.3 Model medvěd hnědý (*Ursus arctos*)

První studie, které přispěly k poznání genetické struktury medvěda hnědého v Evropě, byly práce Randi et al. 1994; Taberlet a Bouvet 1994; Kohn et al. 1995. Autoři popisují dvě odlišné linie – východní (oblasti Rumunska, Ruska, Slovenska, Finska, Estonska) a západní, která se dále rozpadá na dvě podlinie – pyrenejskou a společnou balkánsko-italskou. Podle tehdejších (Hewitt 1999, 2000) představ probíhalo šíření z pyrenejského poloostrova a z oblastí ležících někde na východě Evropy. Italská a balkánská linie se významněji neuplatnila, pravděpodobně jim v šíření zabránila dřívější expanze linie východní a pyrenejské (Hewitt 1999). Popsanou představu však pozměnily

pozdější výzkumy. Bray et al. (2013) identifikovali balkánsko-italské haplotypy ve vzorku fosilní DNA v Dánsku. Rovněž Valdiosera et al. (2007) našli zmíněné haplotypy (u fosilní DNA) v Německu a Francii. Je tedy patrné, že balkánsko/italská linie obývala široce Evropu. Valdiosera et al. (2007) navíc diskutují i o možnosti, že medvědi mohli přežívat i mimo oddělená poloostrovní refugia. Místo toho mohli obývat menší kryptická refugia ve střední Evropě. Tuto domněnku autoři práce podporují citacemi mnoha nálezů fosilních zbytků z doby posledního glaciálního maxima ve střední Evropě. Lze shrnout, že v oboru fylogeografie patří medvěd hnědý mezi nejdéle studované živočichy a je k dispozici velké množství literatury zabývající se jeho genetickou strukturou v Evropě a šířením z glaciálních refugií (Swenson et al. 2011).

Jak je z výše popisovaných příkladů patrné, je třeba hodnotit možné scénáře postglaciálního šíření velice opatrně. Přidání vzorků z dosud neprostudovaných oblastí (zejména za hranicemi Evropy), případně vzorků jaderné nebo fosilní DNA může naše představy značně pozměnit. Dalším faktem, který je třeba do biogeografických úvah zahrnout je rovněž existence severněji položených glaciálních refugií, tedy oblastí mimo tradičně uvažovaná mediteránní refugia, kde mohly různé druhy organismů přežít období glaciálu (Provan a Bennett 2008; Schmitt a Varga 2012). V této souvislosti je jako potenciálně důležité extramediteránní refugium pokládána oblast Karpat (Kotlík et al. 2006).

3 Materiál a metodika

3.1 Materiál

Zájmová oblast zahrnovala téměř celé území, na němž se kudlanka nábožná (*Mantis religiosa*) v rámci Evropy a přilehlých oblastí vyskytuje. Jde především o tzv. mediteránní oblast (včetně severní Afriky), západní a střední Evropu až po severní hranici výskytu, a na východě tzv. Pontickou oblast (kolem Černého Moře a na úpatí pohoří Kavkaz). V rozmezí let 2010-2015 se díky úsilí mnoha sběratelů podařilo získat celkem 471 vzorků tkání z různých jedinců kudlanky nábožné. Dalších 55 vzorků bylo získáno výměnou od Catherine Anne Linn (University of Mainz, Germany) ve formě již izolované DNA. Catherine Anne Linn také poskytla 61 upravených sekvencí mitochondriálních genů použitých v práci Linn a Griebeler (2015). Mimo jedinců kudlanky nábožné se také podařilo získat 18 vzorků tkání z jedinců příbuzných druhů (*Ameles* (Burmeister, 1838), *Empusa* (Illiger, 1798), *Hierodula* (Burmeister, 1838), *Iris* (Saussure, 1869) a *Sphodromantis* (Stål, 1871)). V některých analýzách byly tyto druhy použity jako outgroups. Tabulka uvádějící všech 186 lokalit, z nichž materiál pochází, je v Tabulka 3.1, mapa lokalit je na Obrázek 3.1 (všechny mapové podklady použité v této práci byly vytvořeny v programu ArcGIS verze 10.2). Vzorky tkáně kudlanek (nejčastěji část končetiny nebo křídla) pocházely vždy ze živých jedinců a byly uchovávány v 96% etanolu při teplotě -20 °C.

Tabulka 3.1 Lokality, z nichž pochází materiál použitý v této práci; *izolovaná DNA získaná od C. A. Linn; ** sekvence převzaté z práce Linn a Griebeler 2015

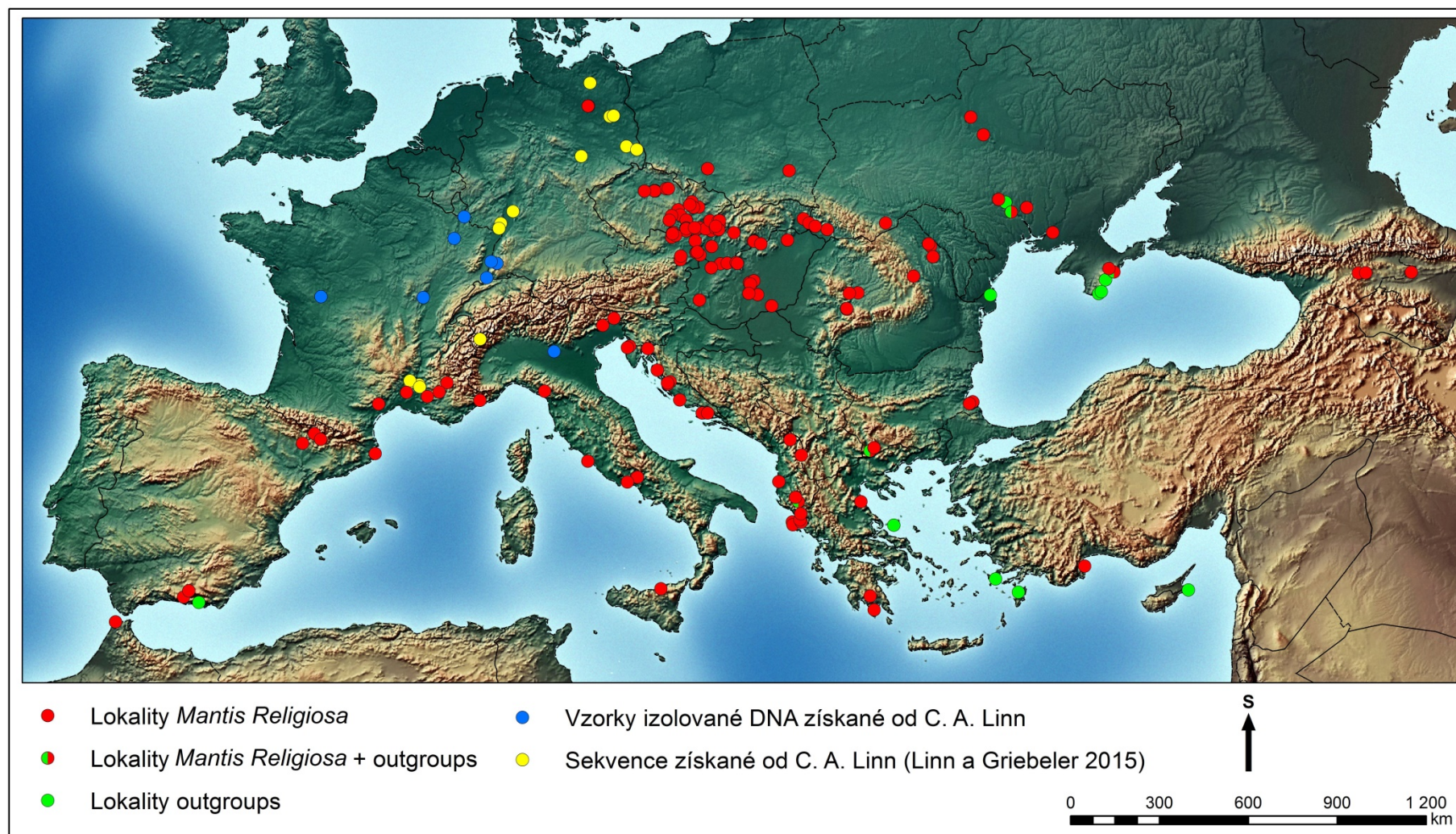
| Číslo lokality | Stát | Lokalita | GPS souřadnice (Lat, Lon) | | Druh a počet jedinců |
|------------------------------------|----------------|------------------|---------------------------|-----------|--|
| PJ10010 | Hungary | Bócsa | 46,69669 | 19,53034 | <i>M. religiosa</i> (1) |
| PJ10017 | Czech Republic | Perná | 48,85755 | 16,63814 | <i>M. religiosa</i> (1) |
| PJ11042 | Czech Republic | Přerov nad Labem | 50,16332 | 14,83577 | <i>M. religiosa</i> (3) |
| PJ11043, PJ11177 | Czech Republic | Brno | 49,17737 | 16,69011 | <i>M. religiosa</i> (2) |
| PJ11044 | Czech Republic | Švařec | 49,51876 | 16,34618 | <i>M. religiosa</i> (4) |
| PJ11045, PJ11097 | Czech Republic | Žehuň | 50,15879 | 15,32444 | <i>M. religiosa</i> (13) |
| PJ11046, PJ11094, PJ11095, PJ11096 | Czech Republic | Tišnov | 49,35833 | 16,41583 | <i>M. religiosa</i> (5) |
| PJ11047 | Bulgaria | Primorsko | 42,29434 | 27,75359 | <i>M. religiosa</i> (1) |
| PJ11048 | Ukraine | Kiev | 50,64857 | 30,76436 | <i>M. religiosa</i> (1) |
| PJ11049, PJ11217 | Czech Republic | Velké Meziříčí | 49,35609 | 16,01306 | <i>M. religiosa</i> (2) |
| PJ11050 | Slovakia | Lučenec | 48,32861 | 19,66917 | <i>M. religiosa</i> (1) |
| PJ11089 | Austria | Baden bei Wien | 48,00426 | 16,25709 | <i>M. religiosa</i> (1) |
| PJ11090 | Austria | Brunn am Gebirge | 48,10934 | 16,28989 | <i>M. religiosa</i> (1) |
| PJ11091, PJ11092 | Czech Republic | Hodonín | 48,88271 | 17,14894 | <i>M. religiosa</i> (2) |
| PJ11093 | Czech Republic | Znojmo | 48,84374 | 16,02294 | <i>M. religiosa</i> (1) |
| PJ11098 | Croatia | Brač | 43,30489 | 16,65271 | <i>M. religiosa</i> (4) |
| PJ11099 | Spain | Béznar | 36,92651 | -3,54712 | <i>M. religiosa</i> (1) |
| PJ11100 | Spain | Berja | 36,8431 | -2,95169 | <i>Iris</i> sp. (1) |
| PJ11101 | Spain | Güejar Sierra | 37,14158 | -3,394771 | <i>M. religiosa</i> (1) |
| PJ11164 | Spain | El Grado | 42,12026 | 0,22367 | <i>M. religiosa</i> (1) |
| PJ11170 | Spain | Noales | 42,45815 | 0,66056 | <i>M. religiosa</i> (1) |
| PJ11174 | Spain | Senterada | 42,31376 | 0,93432 | <i>M. religiosa</i> (1) |
| PJ11178 | Hungary | Kunpeszér | 47,0986 | 19,28991 | <i>M. religiosa</i> (1) |
| PJ11179 | Hungary | Kunpeszér | 47,02968 | 19,28816 | <i>M. religiosa</i> (3) |
| PJ11180 | Hungary | Kunpeszér | 47,09112 | 19,23554 | <i>M. religiosa</i> (2) |
| PJ11181 | Ukraine | Kovalyn | 50,02645 | 31,1131 | <i>M. religiosa</i> (1) |
| PJ11182 | Croatia | Sumartin | 43,2896 | 16,8725 | <i>M. religiosa</i> (2) |
| PJ11183 | Greece | Platamonas | 40,00611 | 22,5973 | <i>M. religiosa</i> (11) |
| PJ11184, PJ13126 | Czech Republic | Havraníky | 48,81138 | 16,00841 | <i>M. religiosa</i> (5) |
| PJ11185 | Austria | Retz | 48,70435 | 15,94156 | <i>M. religiosa</i> (1) |
| PJ11186 | Czech Republic | Havraníky | 48,81583 | 15,97757 | <i>M. religiosa</i> (2) |
| PJ11187 | Czech Republic | Horní Věstonice | 48,86252 | 16,63339 | <i>M. religiosa</i> (1) |
| PJ11188 | Czech Republic | Velké Meziříčí | 49,35913 | 16,01774 | <i>M. religiosa</i> (2) |
| PJ11189, PJ11191 | Czech Republic | Brno | 49,19069 | 16,67628 | <i>M. religiosa</i> (4) |
| PJ11190 | Czech Republic | Třebíč | 49,22393 | 15,89824 | <i>M. religiosa</i> (1) |
| PJ11192 | Slovakia | Bratislava | 48,17883 | 16,98979 | <i>M. religiosa</i> (1) |
| PJ11193 | Bulgaria | Damyantsa | 41,49022 | 23,27225 | <i>M. religiosa</i> (1), <i>Iris</i> sp. (2) |
| PJ11194 | Greece | Tigaki | 36,88861 | 27,18364 | <i>Iris</i> (1) |
| PJ11195 | Slovakia | Kosorín | 48,65316 | 18,80459 | <i>M. religiosa</i> (2) |
| PJ11196 | Slovakia | Bratislava | 48,19637 | 17,03737 | <i>M. religiosa</i> (1) |
| PJ11197 | Romania | Ciuguzel | 46,27282 | 23,89944 | <i>M. religiosa</i> (3) |

| | | | | | |
|---------------------------|----------------|----------------------------|----------|----------|---------------------------|
| PJ11198 | Romania | Râmpeț | 46,30813 | 23,52733 | <i>M. religiosa</i> (3) |
| PJ11199 | Turkey | Kuzdere | 36,60136 | 30,55849 | <i>M. religiosa</i> (1) |
| PJ11200 | Slovakia | Horný Čepen | 48,31253 | 17,72196 | <i>M. religiosa</i> (1) |
| PJ11201 | Slovakia | Lúčky | 48,77572 | 22,04635 | <i>M. religiosa</i> (1) |
| PJ11202 | Slovakia | Lučenec | 48,32237 | 19,65965 | <i>M. religiosa</i> (1) |
| PJ11203 | Slovakia | Hajnáčka | 48,21553 | 19,95641 | <i>M. religiosa</i> (1) |
| PJ11204 | Slovakia | Nová Stráž | 47,76419 | 18,04445 | <i>M. religiosa</i> (1) |
| PJ11205 | Slovakia | Dubnica nad Váhom | 48,95938 | 18,18224 | <i>M. religiosa</i> (1) |
| PJ11206 | Hungary | Zalaszentmihály | 46,7298 | 16,95043 | <i>M. religiosa</i> (1) |
| PJ11207 | Hungary | Győr | 47,67394 | 17,61318 | <i>M. religiosa</i> (1) |
| PJ11208 | Ukraine | Simeiz | 44,4006 | 33,99363 | <i>Hierodula</i> (1) |
| PJ11209 | Ukraine | Užhorod | 48,62136 | 22,27447 | <i>M. religiosa</i> (1) |
| PJ11210 | Slovakia | Bzince pod Javorinou | 48,79501 | 17,77141 | <i>M. religiosa</i> (1) |
| PJ11211 | Ukraine | Irshava | 48,32958 | 23,0454 | <i>M. religiosa</i> (1) |
| PJ11212 | Slovakia | Závod | 48,53357 | 16,99884 | <i>M. religiosa</i> (1) |
| PJ11213 | Hungary | Örkény | 47,13029 | 19,43267 | <i>M. religiosa</i> (1) |
| PJ11214 | Czech Republic | Ječmeniště | 48,74711 | 16,12938 | <i>M. religiosa</i> (1) |
| PJ11215 | Czech Republic | Grygov | 49,53785 | 17,31084 | <i>M. religiosa</i> (1) |
| PJ11216 | Czech Republic | Litovel | 49,72139 | 17,01379 | <i>M. religiosa</i> (1) |
| PJ12031 | Czech Republic | Žehuň | 50,14573 | 15,34304 | <i>M. religiosa</i> (22) |
| PJ12032 | Czech Republic | Brno | 49,19086 | 16,67557 | <i>M. religiosa</i> (17) |
| PJ12033, PJ12034 | Czech Republic | Pouzdrany | 48,94834 | 16,64533 | <i>M. religiosa</i> (11) |
| PJ12035 | Czech Republic | Prerov nad Labem | 50,16295 | 14,83639 | <i>M. religiosa</i> (2) |
| PJ12036 | Czech Republic | Bzenec | 48,91834 | 17,2526 | <i>M. religiosa</i> (2) |
| PJ12037 | Czech Republic | Javorník | 48,86356 | 17,53213 | <i>M. religiosa</i> (1) |
| PJ12038 | Czech Republic | Havraníky | 48,81063 | 15,99651 | <i>M. religiosa</i> (1) |
| PJ12039 | Czech Republic | Hradec Králové | 50,18845 | 15,86056 | <i>M. religiosa</i> (1) |
| PJ12040 | Czech Republic | Luhačovice | 49,10229 | 17,75973 | <i>M. religiosa</i> (1) |
| PJ12041 | Czech Republic | Krňovice | 50,18486 | 15,96667 | <i>M. religiosa</i> (1) |
| PJ12042 | Czech Republic | Slatinky | 49,54867 | 17,06171 | <i>M. religiosa</i> (1) |
| PJ12043 | Italy | Montereale | 46,15213 | 12,63955 | <i>M. religiosa</i> (19) |
| PJ12044 | Italy | Venzone | 46,35305 | 13,14305 | <i>M. religiosa</i> (12) |
| PJ12045 | Greece | Analipsi | 39,69952 | 19,82281 | <i>M. religiosa</i> (1) |
| PJ12046 | Greece | Kameiros | 36,33651 | 27,92135 | <i>Iris</i> sp. (1) |
| PJ12047, PJ12048 | Italy | Cassino | 41,49124 | 13,79333 | <i>M. religiosa</i> (4) |
| PJ12049 | France | Rully | 46,90393 | 4,73905 | <i>M. religiosa</i> (13)* |
| PJ12050 | France | Blotzheim | 47,60305 | 7,510317 | <i>M. religiosa</i> (10)* |
| PJ12051, PJ12053, PJ12059 | Germany | Glottertal | 48,04965 | 7,951156 | <i>M. religiosa</i> (8)* |
| PJ12052, PJ12054 | Germany | Schelingen | 48,104 | 7,691669 | <i>M. religiosa</i> (4)* |
| PJ12055 | France | Quinçay | 46,61368 | 0,229653 | <i>M. religiosa</i> (11)* |
| PJ12056 | Italy | Castiglione delle Stiviere | 45,3928 | 10,51362 | <i>M. religiosa</i> (3)* |
| PJ12057 | France | Montenach | 49,42435 | 6,371683 | <i>M. religiosa</i> (3)* |
| PJ12058 | France | Jaillon | 48,75575 | 5,963467 | <i>M. religiosa</i> (3)* |
| PJ13002 | Albania | Divjakë | 40,9725 | 19,47944 | <i>M. religiosa</i> (2) |
| PJ13003 | Morocco | Tanger | 35,78333 | -5,9 | <i>M. religiosa</i> (5) |
| PJ13004, PJ13005 | Czech Republic | Žehuň | 50,14722 | 15,31186 | <i>M. religiosa</i> (2) |
| PJ13006 | Greece | Korfu | 39,61184 | 19,83061 | <i>M. religiosa</i> (3) |
| PJ13007, | Croatia | Stinica | 44,71419 | 14,9006 | <i>M. religiosa</i> (2) |

| | | | | | |
|---------|----------------|--------------------|----------|----------|--|
| PJ13008 | | | | | |
| PJ13009 | Croatia | Soboli | 45,38039 | 14,54564 | <i>M. religiosa</i> (1) |
| PJ13050 | Poland | Cmolas | 50,28134 | 21,75191 | <i>M. religiosa</i> (4 + 4 oothéky) |
| PJ13056 | Ukraine | Pankratove | 47,87752 | 31,2353 | <i>Iris</i> sp. (1) |
| PJ13057 | Ukraine | Voznesens'k | 47,54885 | 31,35903 | <i>M. religiosa</i> (1), <i>Ameles</i> sp. (2) |
| PJ13058 | Ukraine | Antonivka | 47,54324 | 32,08109 | <i>M. religiosa</i> (5 + 1 oothéka) |
| PJ13060 | Ukraine | Semydvir'ya | 44,72505 | 34,45032 | <i>Ameles</i> sp. (1) |
| PJ13065 | Ukraine | Vesele | 44,86926 | 34,9016 | <i>M. religiosa</i> (4), <i>Sphodromantis</i> sp. (1) |
| PJ13067 | Ukraine | Cheremysivka | 45,01532 | 34,74258 | <i>M. religiosa</i> (4) |
| PJ13071 | Ukraine | Radens'k | 46,58957 | 32,87649 | <i>M. religiosa</i> (2) |
| PJ13072 | Ukraine | Myhiya | 48,02824 | 30,9649 | <i>M. religiosa</i> (1) |
| PJ13076 | Ukraine | Storozhynets' | 48,18176 | 25,71307 | <i>M. religiosa</i> (2) |
| PJ13079 | Ukraine | Chabanivka | 48,49231 | 22,53202 | <i>M. religiosa</i> (30) |
| PJ13081 | Italy | La Traggiara | 44,18739 | 10,10139 | <i>M. religiosa</i> (2) |
| PJ13082 | Ukraine | Gaspra | 44,43094 | 34,12823 | <i>Sphodromantis</i> sp. (1) |
| PJ13083 | Romania | Comănești | 46,42703 | 26,43982 | <i>M. religiosa</i> (2) |
| PJ13084 | Romania | Vaidei | 45,86945 | 23,29125 | <i>M. religiosa</i> (1) |
| PJ13085 | Romania | Vaidei | 45,84221 | 23,30262 | <i>M. religiosa</i> (1) |
| PJ13086 | Romania | Vaidei | 45,86744 | 23,30118 | <i>M. religiosa</i> (4) |
| PJ13087 | Slovakia | Virt | 47,76139 | 18,33806 | <i>M. religiosa</i> (5) |
| PJ13088 | Bulgaria | Primorsko | 42,30525 | 27,74967 | <i>M. religiosa</i> (1) |
| PJ13089 | Bulgaria | Jasna Poljana | 42,27268 | 27,60492 | <i>M. religiosa</i> (1) |
| PJ13090 | Croatia | Starigrad | 44,33164 | 15,40919 | <i>M. religiosa</i> (1) |
| PJ13091 | Croatia | Ljubač | 44,26599 | 15,30784 | <i>M. religiosa</i> (1) |
| PJ13092 | Croatia | Rtina | 44,30049 | 15,29237 | <i>M. religiosa</i> (1) |
| PJ13093 | Romania | Letea | 45,31069 | 29,50909 | <i>Ameles</i> sp. (1) |
| PJ13094 | Czech Republic | Pouzdřany | 48,94256 | 16,64249 | <i>M. religiosa</i> (1) |
| PJ13095 | Czech Republic | Pouzdřany | 48,92876 | 16,64455 | <i>M. religiosa</i> (2) |
| PJ13096 | Hungary | Szeged | 46,30233 | 20,07293 | <i>M. religiosa</i> (1) |
| PJ13097 | Cyprus | Protaras | 34,98694 | 34,06736 | Mantodea gen. spp. (2) |
| PJ13098 | Czech Republic | Mutěnice | 48,93387 | 17,03061 | <i>M. religiosa</i> (1) |
| PJ13099 | Georgia | Kasristskali | 41,21766 | 46,43319 | <i>M. religiosa</i> (37) |
| PJ13100 | Georgia | Kaspi | 41,94034 | 44,45076 | <i>M. religiosa</i> (15) |
| PJ13101 | Georgia | Mtskheta | 41,83846 | 44,73396 | <i>M. religiosa</i> (1) |
| PJ13103 | Hungary | Monok | 48,21358 | 21,18031 | <i>M. religiosa</i> (1) |
| PJ13104 | Spain | Estartit | 42,05673 | 3,20677 | <i>M. religiosa</i> (1) |
| PJ13105 | Romania | Comănești | 46,42656 | 26,44075 | <i>M. religiosa</i> (1) |
| PJ13106 | Croatia | Tribunj | 43,75567 | 15,7551 | <i>M. religiosa</i> (1) |
| PJ13107 | Slovakia | Vršatské Podhradie | 49,06448 | 18,1532 | <i>M. religiosa</i> (2) |
| PJ13108 | Slovakia | Mikušovce | 49,06504 | 18,20589 | <i>M. religiosa</i> (13) |
| PJ13109 | Slovakia | Bratislava | 48,09603 | 17,16291 | <i>M. religiosa</i> (5) |
| PJ13110 | Slovakia | Opatovce | 48,85869 | 17,97679 | <i>M. religiosa</i> (1) |
| PJ13111 | Hungary | Kunpeszér | 47,04502 | 19,26884 | <i>M. religiosa</i> (1) |
| PJ13112 | Slovakia | Bratislava | 48,19116 | 17,04419 | <i>M. religiosa</i> (1) |
| PJ13113 | Albania | Këlcyrë | 40,29969 | 20,14837 | <i>M. religiosa</i> (1), Mantodea gen. sp. (1) |
| PJ13114 | Albania | Komarak | 40,43731 | 20,06079 | <i>M. religiosa</i> (1) |
| PJ13115 | Albania | Vagalat | 39,73048 | 20,13288 | <i>M. religiosa</i> (1) |
| PJ13116 | Albania | Konispol | 39,65798 | 20,16113 | <i>M. religiosa</i> (1) |
| PJ13117 | Albania | Vagalat | 39,73854 | 20,13286 | <i>M. religiosa</i> (4), <i>Empusa</i> sp. (1) |
| PJ13118 | Albania | Vagalat | 39,73937 | 20,12944 | <i>M. religiosa</i> (1) |
| PJ13119 | Albania | Krongji | 39,91945 | 20,18519 | <i>M. religiosa</i> (1) |

| | | | | | |
|---------|----------------|-----------------------|----------|----------|---------------------------------|
| PJ13120 | Albania | Rabdisht | 41,68467 | 20,50412 | <i>M. religiosa</i> (4) |
| PJ13121 | Romania | Valea Lupului | 47,19356 | 27,46893 | <i>M. religiosa</i> (2) |
| PJ13122 | Romania | Horlești | 47,27406 | 27,40862 | <i>M. religiosa</i> (1) |
| PJ13123 | Romania | Negrești | 46,86254 | 27,46324 | <i>M. religiosa</i> (1) |
| PJ13124 | Italy | Santa Marinella | 42,03347 | 11,85373 | <i>M. religiosa</i> (1) |
| PJ13125 | Italy | Cassino | 41,49062 | 13,83342 | <i>M. religiosa</i> (2) |
| PJ14001 | Albania | Dardhe | 42,20073 | 20,12786 | <i>M. religiosa</i> (2) |
| PJ14002 | Greece | Skopelos | 39,12782 | 23,72289 | <i>Sphodromantis</i> sp. (1) |
| PJ14003 | France | Melve | 44,3662 | 5,97953 | <i>M. religiosa</i> (5) |
| PJ14004 | France | La Rochegiron | 44,06907 | 5,66801 | <i>M. religiosa</i> (4) |
| PJ14005 | France | Sainte-Eulalie | 43,99141 | 4,30043 | <i>M. religiosa</i> (3) |
| PJ14006 | France | Faugères | 43,57001 | 3,17181 | <i>M. religiosa</i> (12) |
| PJ14007 | France | Les Faïscia | 43,87384 | 7,3932 | <i>M. religiosa</i> (1 oothéka) |
| PJ14008 | Slovakia | Trenčianske Jastrabie | 48,80005 | 18,12072 | <i>M. religiosa</i> (1) |
| PJ14009 | Bulgaria | Sugarevo | 41,55764 | 23,44776 | <i>M. religiosa</i> (1) |
| PJ14010 | Hungary | Dunatetétlen | 46,76865 | 19,15026 | <i>M. religiosa</i> (1) |
| PJ14011 | Italy | Torre del Lauro | 38,04583 | 14,53543 | <i>M. religiosa</i> (1) |
| PJ14012 | Germany | Roddahn | 52,81964 | 12,31612 | <i>M. religiosa</i> (6) |
| PJ14013 | Germany | Roddahn | 52,82211 | 12,29921 | <i>M. religiosa</i> (6) |
| PJ14014 | Czech Republic | Přerov nad Labem | 50,16306 | 14,83649 | <i>M. religiosa</i> (5) |
| PJ14015 | Croatia | Sumartin | 43,28563 | 16,87268 | <i>M. religiosa</i> (4) |
| PJ14016 | France | Gordes | 43,90754 | 5,179786 | <i>M. religiosa</i> (2) |
| PJ14017 | Hungary | Dorog | 47,74804 | 18,74489 | <i>M. religiosa</i> (3) |
| PJ14018 | Hungary | Keszölc | 47,71991 | 18,7942 | <i>M. religiosa</i> (1) |
| PJ14019 | Italy | Fondi | 41,35903 | 13,42662 | <i>M. religiosa</i> (3) |
| PJ14020 | Czech Republic | Hvozď | 49,63617 | 16,9101 | <i>M. religiosa</i> (1) |
| PJ14021 | Poland | Opole | 50,6751 | 17,9213 | <i>M. religiosa</i> (2) |
| PJ14022 | Slovakia | Trenčín | 48,91053 | 18,00039 | <i>M. religiosa</i> (2) |
| PJ14023 | France | Bollène | 44,252 | 4,803 | <i>M. religiosa</i> (3)** |
| PJ14024 | France | Orgnac-l'Aven | 44,316 | 4,419 | <i>M. religiosa</i> (2)** |
| PJ14025 | France | Orgnac-l'Aven | 44,301 | 4,419 | <i>M. religiosa</i> (2)** |
| PJ14026 | France | Labastide-de-Virac | 44,352 | 4,403 | <i>M. religiosa</i> (1)** |
| PJ14027 | France | Sérignan-du-Comtat | 44,187 | 4,838 | <i>M. religiosa</i> (6)** |
| PJ14028 | Germany | Weyher in der Pfalz | 49,268 | 8,084 | <i>M. religiosa</i> (13)** |
| PJ14029 | Germany | Pleisweiler-Oberhofen | 49,116 | 8,003 | <i>M. religiosa</i> (1)** |
| PJ14030 | Germany | Heppenheim | 49,642 | 8,638 | <i>M. religiosa</i> (5)** |
| PJ14031 | Germany | Braunsbedra | 51,308 | 11,89 | <i>M. religiosa</i> (2)** |
| PJ14032 | Germany | Silz | 53,519 | 12,44 | <i>M. religiosa</i> (1)** |
| PJ14033 | Germany | Berlin | 52,482 | 13,366 | <i>M. religiosa</i> (6)** |
| PJ14034 | Germany | Berlin | 52,499 | 13,546 | <i>M. religiosa</i> (3)** |
| PJ14035 | Germany | Sedlitz | 51,549 | 14,104 | <i>M. religiosa</i> (3)** |
| PJ14036 | Germany | Nochten | 51,431 | 14,599 | <i>M. religiosa</i> (7)** |
| PJ14037 | Italy | Aosta | 45,733 | 7,313 | <i>M. religiosa</i> (6)** |
| PJ14038 | Slovenia | Župančiči | 45,48336 | 13,77301 | <i>M. religiosa</i> (1) |
| PJ14039 | Slovenia | Dragonja | 45,44815 | 13,67649 | <i>M. religiosa</i> (1) |
| PJ14040 | Greece | Dichova | 36,67927 | 22,49211 | <i>M. religiosa</i> (1) |
| PJ14041 | Greece | Karavas Logastras | 37,11576 | 22,4165 | <i>M. religiosa</i> (1) |

Obrázek 3.1 Mapa lokalit



3.2 Mitochondriální geny

Pro analýzu mitochondriálních genů bylo vybráno celkem 146 vzorků (135 jedinců druhu *Mantis religiosa* a 11 jedinců ostatních druhů) vždy do počtu maximálně pěti jedinců z jedné lokality. Přednostně byly vybírány lokality mimo střední Evropu, protože sekvence jedinců ze střední Evropy byly již k dispozici z diplomové práce Mgr. Hany Parčové (Urbánková 2012).

3.2.1 Izolace DNA

Pro izolaci DNA byla použita u většiny vzorků končetina, nejčastěji část chodidla a holeně. U několika jedinců pak byla úspěšně izolována DNA z části křídla. V případě larválních stadií byl pro izolaci použit celý jedinec. Tkáň pro izolaci DNA byla od zbytku vzorku oddělena sterilizovanou pinzetou a nůžkami, vložena do 1,5ml mikrozkušavky a ponechána v termobloku po dobu cca 15 minut, aby se odpařil veškerý ethanol z tkáně. Poté byla tkáň nastříhána sterilizovaným preparačním náčiním na menší kousky pro lepší působení proteinázy. Vlastní izolace DNA pak byla provedena izolačním kitem DNeasy® Blood & Tissue Kit (Qiagen) podle protokolu Purification of Total DNA from Animal Tissues. Takto získaná DNA byla uchovávána v mikrozkušavkách při teplotě -20 °C.

3.2.2 Amplifikace DNA

Amplifikace vybraných úseků DNA byla provedena polymerázovou řetězovou reakcí (PCR). Pro amplifikaci byly vybrány úseky tří mitochondriálních genů: cytochrom oxidáza I (COI), cytochrom oxidáza II (COII) a cytochrom b (Cyt b). Sekvence použitých primerů jsou uvedeny v Tabulka 3.2.

Tabulka 3.2 Primery použité pro PCR reakce

| Gen | Název | Orientace | Sekvence ve směru 5'→3' | Zdroj |
|-------|--------------|-----------|----------------------------|---------------------------|
| COI | Jerry | forward | CAACATTTATTTTGATTTTTTGG | Simon et al. 1994 |
| | Pat | reverse | TCCAATGCACTAATCTGCCATATTA | Simon et al. 1994 |
| COII | COII Flue | forward | TCTAATATGGCAGATTAGTGC | Svenson a Whiting 2004 |
| | COII 9b | reverse | GTACTTGCTTTCAGTCATCTW | Svenson a Whiting 2004 |
| Cyt b | CP1 | forward | GATGATGAAATTTTGGATC | Harry et al. 1998 |
| | CN-B | reverse | ATTACACCTCCTAATTTATTAGGAAT | Jermiin a Crozier 1994 |

Pro PCR reakci byla použita směs PPP Master Mix. Složení použité reakční směsi přepočtené na jednu reakci udává Tabulka 3.3. Objem DNA a PCR H₂O byl zvyšován resp. snižován v rámci uvedeného rozmezí podle případné předchozí neúspěšné reakce a tak, aby výsledný objem reakční směsi byl vždy právě 25 µl.

Tabulka 3.3 Složení reakční směsi PCR

| Reaktant | Objem (µl) |
|-----------------------------|------------|
| PPP Master Mix | 12,5 |
| MgCl ₂ (25nM) | 2,5 |
| primer forward (10 pmol/µl) | 1 |
| primer reverse (10 pmol/µl) | 1 |
| PCR H ₂ O | 5–7 |
| DNA (5–10 ng/µl) | 1–3 |

Všechny PCR reakce probíhaly v cykleru C1000™ Thermal Cycler. Přesná nastavení programů pro jednotlivé geny jsou uvedeny v Tabulka 3.4, Tabulka 3.5 a Tabulka 3.6.

Tabulka 3.4 Program pro amplifikaci genu COI

| Krok | Počet opakování | Teplota (°C) | Čas (s) |
|----------------------|------------------------|---------------------|----------------|
| Počáteční denaturace | 1 | 95 | 300 |
| Denaturace | 40 | 95 | 30 |
| Nasedání primerů | 40 | 50 | 40 |
| Prodlužování | 40 | 72 | 120 |
| Konečné prodlužování | 1 | 72 | 480 |
| Chlazení | 1 | 4 | ∞ |

Tabulka 3.5 Program pro amplifikaci genu COII

| Krok | Počet opakování | Teplota (°C) | Čas (s) |
|----------------------|------------------------|---------------------|----------------|
| Počáteční denaturace | 1 | 95 | 720 |
| Denaturace | 40 | 94 | 60 |
| Nasedání primerů | 40 | 52 | 60 |
| Prodlužování | 40 | 72 | 75 |
| Konečné prodlužování | 1 | 72 | 60 |
| Chlazení | 1 | 12 | ∞ |

Tabulka 3.6 Program pro amplifikaci genu Cyt b

| Krok | Počet opakování | Teplota (°C) | Čas (s) |
|----------------------|------------------------|---------------------|----------------|
| Počáteční denaturace | 1 | 92 | 300 |
| Denaturace | 40 | 92 | 60 |
| Nasedání primerů | 40 | 46 | 30 |
| Prodlužování | 40 | 72 | 120 |
| Konečné prodlužování | 1 | 72 | 600 |
| Chlazení | 1 | 12 | ∞ |

3.2.3 Elektroforéza

Správný průběh PCR reakce byl ověřován pomocí elektroforézy na agarózovém gelu. Tento gel byl připravován jako 0,5% a bylo do něho přimícháno 1,5–2,5 µl ethidium bromidu. Do jednotlivých jamek gelu pak bylo nanесeno 4 µl PCR produktu a 2 µl délkového standardu GeneRuler™ DNA Ladder. Elektroforéza probíhala 40–45 minut při napětí 100 V s protékajícím proudem 400 mA. Výsledek byl ověřován na transluminátoru pod UV osvětlením. Vzorky u kterých nebyl potvrzen správný průběh PCR, byly opakovaně amplifikovány s vyšším množstvím DNA. Pokud elektroforéza ani napodruhé nepotvrdila zdárný průběh amplifikace, byly vzorky znovu přezolovány. V případě, že se stále nepodařilo získat PCR produkt, byly tyto vzorky z analýz pro konkrétní gen vyřazeny.

3.2.4 Purifikace DNA

Vzorky u nichž elektroforéza potvrdila úspěšný průběh PCR reakce, byly následně přečištěny. K tomu byly použity purifikační kity PCRExtract Mini Kit (5 Prime) a MinElute® PCR Purification Kit (Qiagen). Purifikace byla prováděna podle protokolů přiložených k těmto kitům – Purifying DNA from PCR samples using the PCRExtract Mini Kit (5 Prime) a Quick Start Protocol (Qiagen). Přečištění PCR produktů nebylo prováděno u vzorků určených k sekvenaci ve firmě Macrogen.

3.2.5 Sekvenace DNA

Kontrola správné purifikace byla ověřena pomocí spektrofotometru NanoDrop®ND-100. Většina vzorků byla sekvenována v nizozemské pobočce firmy Macrogen, kam byly odeslány přímo PCR produkty (20 µl) spolu s přiloženými primery pro sekvenaci. Menší část vzorků byla odeslána do sekvenační laboratoře PřF UK v Praze. Směs pro sekvenaci v této laboratoři byla připravena smícháním amplifikované DNA, 0,32 µl vybraného primeru a doplněním ddH₂O do celkového objemu 8 µl. Množství amplifikované DNA bylo vypočteno takto:
$$\frac{\text{délka PCR produktu (bp)}}{\text{koncentrace změřená spektrofotometrem (ng/}\mu\text{l)} \cdot 10^6}$$
. Sekvenace probíhala vždy jen z jednoho směru. Pro COI byl zvolen primer PAT (reverse), pro COII 9b (reverse) a pro Cyt b CP1 (forward). V několika málo případech byly použity i druhé možné primery.

3.2.6 Editace sekvencí

Kontrola chromatogramu a veškerá editace sekvencí byla provedena v programu Geneious® verze 7.1.5 (Kearse et al. 2012). Základní editace zahrnovala sjednocení orientace forward/reverse a manuální editaci špatně čitelných míst v sekvencích. V tomto programu byl rovněž proveden alignment sekvencí metodou ClustalW (Thompson et al. 1994). Dále byly v tomtéž programu sekvence zkráceny na vhodnou délku, byla provedena kontrola čtecího rámce (zda neobsahuje stop kodóny) a alignmenty jednotlivých genů spojeny do konkatenátů. Na závěr byly takto připravené datasety exportovány ve formátu phylip či nexus pro další analýzy.

3.2.7 Analýza dat

Analýzy Maximum likelihood a Bayesovské analýzy byly provedeny vždy pro jednotlivé geny, všechny konkatenáty dvojic genů a pro konkatenát všech tří genů. Výsledky těchto analýz byly vizualizovány v programu FigTree verze 1.4.0. (Rambaut 2012). Z konkatenátu tří mitochondriálních genů byly následně určeny haplotypy (program FaBox verze 1.41 (Villesen 2007)) pro další analýzy.

3.2.7.1 Maximum likelihood

Analýza Maximum likelihood byla provedena na portálu The CIPRES Science Gateway verze 3.3. (Miller et al. 2010). Pro výpočty byla použita metoda RAxML on XSEDE verze 8.1.24 (Stamatakis 2014) s výchozím nastavením parametrů a s parametrem „Bootstrap iterations“ nastaveným na hodnotu 1000. Pro konkatenáty pak byl použit „partitioned model“ k označení úseků jednotlivých genů.

3.2.7.2 Bayesovská analýza

Pro nastavení vhodných parametrů na Bayesovskou analýzu byl proveden test v programu PartitionFinder verze 1.1.1. (Lanfear et al. 2012). Testování bylo provedeno pro výsledný konkatenát genů. Jako nejvhodnější byl určen model GTR + I + gamma, a proto byl použit pro Bayesovskou analýzu. Vstupní nexus soubor byl po spouštěcím příkazu specifikován těmito parametry: „nchains=4 ngen=10000000 printfreq=1000 samplefreq=1000 savebrlens=yes“. Bayesovská analýza byla provedena na portálu The CIPRES Science Gateway verze 3.3. (Miller et al. 2010). K analýze byla použita metoda

MrBayes on XSEDE verze 3.2.3. Bylo ponecháno výchozí nastavení parametrů. Kontrola výsledků byla provedena v programu Tracer verze 1.6. (Rambaut et al. 2014). Finální výpočet stromů byl proveden v programu MrBayes verze 3.2.1. (případně 3.2.5) (Huelsenbeck a Ronquist 2001; Ronquist a Huelsenbeck 2003).

3.2.7.3 Odhady divergence

Odhady průměrné divergence uvnitř nalezených linií (počet substitucí na jedno nukleotidové místo) a divergence mezi dvojicemi těchto linií byly určeny analýzou Kimura 2-parameter model (Kimura 1980) v programu MEGA verze 6 (Tamura et al. 2013).

3.2.7.4 Haplotypová síť

Pro rozdělení sekvencí do haplotypů byl použit program FaBox verze 1.41 (Villesen 2007). Takto získané haplotypy byly použity pro sestavení haplotypové sítě. K tomuto účelu byla použita metoda Median Joining (Bandelt et al. 1999) v programu Network verze 4.6.1.3 (Bandelt et al. 2015). V tomto programu byla metodou MP Calculation (Polzin a Daneshmand 2003) výsledná síť upravena.

3.2.7.5 Populační struktura

Celkové charakteristiky diverzity (haplotypová a nukleotidová diverzita) byla zjištěna pomocí programu Arlequin verze 3.5.2.2 (Excoffier a Lischer 2010). Prostorová analýza molekulární variance (SAMOVA) byla provedena v programu SAMOVA verze 1.0 (Dupanloup et al. 2002). Pro tuto analýzu bylo provedeno sloučení geograficky blízkých lokalit výskytu, výchozím kritériem pro sloučení lokalit byla jejich vzájemná vzdálenost menší než 50 km (Linn a Griebeler 2015). Pokud však byl z určité lokality k dispozici velmi malý počet vzorků, byla taková lokalita sloučena s nejbližší jinou lokalitou bez ohledu na uvedenou 50km vzdálenost. Dále bylo nutné při slučování lokalit zohlednit geografické bariéry jako např. pohoří. Důležitým bodem bylo rovněž odlišení vzorků pocházejících z různých linií získaných v předešlých fylogenetických analýzách, ale vyskytujících se na stejné lokalitě. Takové haplotypy bylo nutné přiřadit různým populacím, aby s nimi bylo možné v programu SAMOVA pracovat. Na druhou stranu pro nezkreslené výsledky výpočtu nukleotidové a haplotypové diverzity na dané lokalitě bylo nutné neodlišovat populace spadající do různých linií, proto byly tyto opět sloučeny. Tímto

způsobem bylo nakonec vytvořeno 69 populací pro analýzu SAMOVA resp. 61 populací pro výpočet nukleotidové a haplotypové diverzity. Následně bylo v programu SAMOVA otestováno rozdělení těchto populací do skupin. Program byl spouštěn s hodnotou parametru „Number of initial conditions“ rovnou 50 a pro počty skupin $K = 2-10$. Pro ověření fixačních indexů bylo použito 1 023 permutací. Ke zjištění demografické historie byly dále v programu Arlequin vypočteny hodnoty Tajima's D testu (Tajima 1989), Fu's FS testu (Fu a Li 1993; Fu 1997) a testu Mismatch Distribution (spatial expansion model s hodnotou parametru „Number of bootstrap replicates“ = 1000) (Rogers a Harpending 1992) pro počet skupin $K = 3$. Haplotypová diverzita pro jednotlivé populace byla vizualizována pomocí interpolačních metod v programu ArcGIS verze 10.2.

3.3 Mikrosatelity

Pro analýzu mikrosatelitových lokusů bylo použito všech 524 vzorků z různých jedinců *Mantis religiosa*. Rovněž bylo vyzkoušeno, zda primery navrhnuté pro tento druh jsou použitelné i pro jedince příbuzných druhů (*Ameles*, *Hierodula*, *Iris* a *Sphodromantis*). Navrhnutí vhodných primerů provedla firma GenoScreen Company (služba Geno Sat®), k tomuto účelu byly použity larvy *Mantis religiosa* pocházející z jedné oothéky z lokality Havranické vřesoviště (NP Podyjí), Česká republika (GPS 48.8192217N, 16.0105858E, květen 2010). Petr Janšta připravil 20 µl směsi DNA z 10 jedinců o koncentraci 1 000 ng/ml, která byla odeslána do výše jmenované firmy. Takto bylo navrženo 97 párů primerů z celkového počtu 21 172 sekvencí, z nichž 781 zahrnovalo mikrosatelitové motivy. Ze všech navržených primerů vybrala Mgr. Hana Parčová ve svojí diplomové práci celkem 33 párů primerů k testování (Urbánková 2012). Na základě toho pak určila 13 párů primerů k označení fluorescenční barvou, viz Tabulka 3.7. Autor této práce pak otestoval dalších 14 párů primerů, které nebyly mezi dosud vybranými 33 páry (vybrané primery jsou uvedeny v Tabulka 3.8) a rovněž znovu otestoval funkčnost výše zmíněných 13 již označených párů primerů. Z nově testovaných 14 párů primerů bylo vybráno 8 párů k označení fluorescenční barvou. Do výsledného multiplexu pak bylo na základě testování dřívějších i nových primerů vybráno pouze 6 párů, jak ukazuje Tabulka 3.13. Tyto primery vykazovaly nejlepší schopnost amplifikace lokusů a zároveň byly pro tyto lokusy dostatečně variabilní. Značené primery byly objednány u firmy Applied Biosystems. Pro potřeby multiplexu bylo nutné nechat jeden primer přebarvit, aby bylo možné odlišit signál.

Tabulka 3.7 Znovu testované již fluorescenčně značené mikrosatelitové primery

| Označení primeru | Orientace forward ve směru 5'→3' a označení použité fluorescenční barvy | Orientace reverse ve směru 5'→3' | Délka PCR produktu | Motiv repetic | Počet repetic |
|------------------|---|----------------------------------|--------------------|---------------|---------------|
| MR_01 | 6FAM™ - TTGAAGTTGCGTAACAAGTTAACAG | TGTTGCTCTGTCCAATGAGG | 241 | caa | 10 |
| MR_03 | PET® - GCAGGTTTTCTCCAGTCAGC | TCCTCCTTCTCCTTCTTCTCC | 275 | agg | 7 |
| MR_05 | PET® - TGACCGAGAACTCACCTCT | TGAGTTTTACCGCATACCA | 171 | atg | 12 |
| MR_06 | VIC® - CGAGTGGTAAGGGAGGATGA | CGTCTGTCTTACGCGTGTTG | 265 | tg | 6 |
| MR_08 | VIC® - CGACGAACTTTACTCCAGCC | AAATGTGAGACCGGAACAGG | 167 | ttc | 15 |
| MR_09 | PET® - GTTGAGCGCCCTTATACACA | TTGATGCCTTCAAAGTTGCT | 127 | cat | 18 |
| MR_10 | NED™ - CCAGGCAAATAGTGGTTGCT | TCCTGTTTTACCGGCACTTC | 259 | acg | 7 |
| MR_11 | 6FAM™ - TACGGAGGCTATGGAGGAGA | GGTTAACCGCGAACAAAATG | 152 | aggag | 10 |
| MR_12 | NED™ - AGTAAGACGCAATTGTGGGC | GGGGTTTCCCCTTATTCTGA | 195 | gtt | 8 |
| MR_13 | NED™ - TGCCTACTGAGTGTGAGCCA | CCAGCACGCATTCTACAACA | 149 | tct | 20 |
| MR_14 | PET® - TCATTCGAACTAAGGCACATTTT | CCCCTCAATACTCTTCCGGT | 230 | ttc | 14 |
| MR_15 | 6FAM™ - GCAGTCGTTAGCGTATCGTG | CTACGGTAACCCAACCCAAC | 182 | ttggg | 9 |
| MR_17 | VIC® - GTTGCGACTAGCAATCACGA | TCCCATAAAGGTTGATACCAAGT | 239 | acc | 16 |

Tabulka 3.8 Nově testované primery (dosud neoznačené fluorescenční barvou)

| Označení primeru | Orientace forward ve směru 5'→3' | Orientace reverse ve směru 5'→3' | Délka PCR produktu | Motiv repetice | Počet repetice |
|------------------|----------------------------------|----------------------------------|--------------------|----------------|----------------|
| MR_34 | GTTCCCCTGTATTCCCCATT | AAATTCAATAGTTGGCCAGATGA | 108 | tc | 13 |
| MR_35 | ATGGACTACATGAGAGGCCC | TTGAAATGAAGCACCTGCAA | 91 | ca | 11 |
| MR_36 | CCACGAATTAAATCGCATGT | CCTTTCATTACACGTTTCGAT | 123 | ttg | 7 |
| MR_37 | AAGCAATCCGTCGTTTATGG | TTGGTTCCCGTACTGCCTAC | 138 | ag | 10 |
| MR_38 | ACACTTTTGGTCAATCCTTACAG | GCTCTTTGTTGTGGTCAACG | 95 | ca | 10 |
| MR_39 | CGCTCGTATGTAGGGTGGAT | TTTGTCTCACACTCACAAACACA | 115 | tg | 11 |
| MR_40 | CATCATTTGATCATCGTCCG | AGTCTGAAAAGCCCTCCCAT | 124 | aca | 8 |
| MR_41 | TTCAGTCCCCAACAGGAAAG | AAAGGTTCACTGATTTTGGGA | 162 | ca | 7 |
| MR_42 | TTTGAGCATCATTTACCCA | TCTCCAACAGTCATTACGGAGA | 200 | caa | 7 |
| MR_43 | AAGAACAAACACCGGACTCCT | CAAAACGACCTTACACCCAAA | 250 | gt | 5 |
| MR_44 | GGTAGGAGACAATGGGCAGA | TTTGGCACCTCCTTACTCGT | 305 | aag | 8 |
| MR_45 | CCTCCACCTGAGAAATGGTG | TGCCTTCATGAAAATCCTCAA | 130 | ac | 9 |
| MR_46 | AAAAGCGGAGGGAAACAAGT | CTCTGCAGTTGAGTGCCCTT | 100 | tga | 9 |
| MR_47 | TTCTATGGAAAATTATCTGGTTTAACT | GGTTACCTACAACAGCCTGGG | 90 | ag | 8 |

3.3.1 Izolace DNA pro analýzu mikrosatelitů

DNA získaná izolací pro analýzu mitochondriálních genů byla použita též pro analýzu mikrosatelitů. Ostatní vzorky, které nebyly izolovány postupem uvedeným v kapitole 3.2.1, byly zpracovány izolací pomocí Chelexu (Mikát 2014). Při tomto postupu izolace byla opět použita tkáň nejčastěji z části končetiny a výjimečně z křídla. Sterilizovaným preparačním náčiním byla tkáň nastříhána a ponechána v termobloku v otevřených stripech PCR mikrozkušavek k odpaření etanolu. Poté byla k jednotlivým vzorkům přidána proteináza (8 μ l) a 50 μ l 10% roztoku Chelexu. Po protřepání stripů, byly tyto uloženy do cykleru C1000™ Thermal Cycler, na němž byl spuštěn program podle Tabulka 3.9. Po proběhnutí lyze v cykleru byly stripy opět protřepány a následně centrifugovány 2 minuty v centrifuze na stripy. Po této centrifugaci vedoucí k usazení kuliček Chelexu na dně stripu byla přepipetována horní frakce (bez zbytků tkáně a kuliček Chelexu) do nových stripů. Takto získaná DNA byla uložena při teplotě -20 °C.

Tabulka 3.9 Schéma programu pro izolaci DNA pomocí Chelexu

| Počet opakování | Teplota (°C) | Čas (min) |
|-----------------|--------------|-----------|
| 1 | 55 | 50 |
| 1 | 97 | 9 |
| 1 | 4 | ∞ |

3.3.2 Amplifikace DNA – testování primerů

Amplifikace vybraných mikrosatelitových lokusů byla provedena PCR reakcí v cykleru C1000™ Thermal Cycler. Byla použita reakční směs QIAGEN Multiplex PCR Kit. Složení směsi pro testování primerů přepočtené na jeden vzorek je zobrazeno v Tabulka 3.10.

Tabulka 3.10 Reakční směs pro testování mikrosatelitových primerů

| Reaktant | Objem (μl) |
|-----------------------------|------------|
| Qiagen Multiplex PCR Kit | 5 |
| Q Solution | 1 |
| primer forward (10 pmol/μl) | 0,4 |
| primer reverse (10 pmol/μl) | 0,4 |
| RNAse Free Water | 3,2 |
| DNA (5–10 ng/μl) | 1 |

Program použitý pro amplifikaci byl shodný jak při testování primerů tak pro výsledný multiplex a je uveden v Tabulka 3.11.

Tabulka 3.11 Schéma programu pro amplifikaci mikrosatelitů

| Krok | Počet opakování | Teplota (°C) | Čas (s) |
|----------------------|-----------------|--------------|---------|
| Počáteční denaturace | 1 | 95 | 900 |
| Denaturace | 30 | 94 | 30 |
| Nasedání primerů | 30 | 61 | 90 |
| Prodlužování | 30 | 72 | 30 |
| Konečné prodlužování | 1 | 60 | 1 800 |
| Chlazení | 1 | 4 | ∞ |

3.3.3 Elektroforéza

Při testování funkčnosti vybraných primerů byl ověřován správný průběh PCR reakce elektroforézou na agarózovém gelu. Agarózový gel byl míchán jako 2–2,5%. Do gelu bylo přidáno 1,5–2,5 μl ethidium bromidu. Každý vzorek byl před nanesením do jamky gelu smíchán na parafilmu s pufrem Loading Dye a to v poměru 6 μl PCR produktu a 4 μl nanášecího pufru. 6 μl této směsi pak bylo naneseno na gel a paralelně k nim přidáno 2 μl délkového standardu GeneRuler™ DNA Ladder. Elektroforéza probíhala 50–60 minut při napětí 90–100 V a s protékajícím proudem 400 mA. Gel byl poté kontrolován pod UV světlem transluminátoru. Po sestavení multiplexu

elektroforéza již prováděna nebyla a PCR produkty byly rovnou odeslány na fragmentační analýzu.

3.3.4 Denaturace a fragmentační analýza

Před odesláním vzorků na fragmentační analýzu do sekvenační laboratoře PřF UK v Praze bylo nutné vzorky zdenaturovat. Tento krok byl prováděn jen s primery již označenými fluorescenčními barvami. Denaturace byla prováděna smícháním podle Tabulka 3.12 a to buď ve stripech PCR mikrozkušavek nebo v optickém platíčku. Jako délkový standard byl použit LIZ 500 (Applied Biosystems). Vzorky byly poté denaturovány v cykleru C1000™ Thermal Cycler zahřátím na 95 °C po dobu dvou minut a poté zchlazením na 5 °C po dobu 5 minut. Takto zdenaturované vzorky byly odeslány na fragmentační analýzu do sekvenační laboratoře PřF UK v Praze. Část vzorků pak byla odeslána na analýzu do nizozemské pobočky firmy Macrogen. Tyto vzorky nebyly denaturovány a byl odeslán přímo PCR produkt.

Tabulka 3.12 Reakční směs pro denaturaci

| Reaktant | Objem (μl) |
|--------------|------------|
| Formamid 95% | 9 |
| LIZ 500 | 0,5 |
| PCR produkt | 0,5 |

3.3.5 Multiplex primerů

Primery, které se v prvotní fázi testování ukázaly jako fungující, byly vybrány pro sestavení multiplexu. Tyto vybrané primery jsou zobrazeny v Tabulka 3.13. Multiplex byl připravován smícháním 1 μl forward + 1 μl reverse od každého primeru a doplněním 88 μl vody (celkem tedy 100 μl multiplexu). Reakční směs použitá pro multiplex primerů se mírně lišila od směsi použité při testování. Její složení přepočtené na jeden vzorek je uvedeno v Tabulka 3.14. Pro vzorky, které se nepodařilo napoprvé amplifikovat, pak byla použita směs se zvýšeným množstvím DNA (v tom případě bylo také upraveno množství RNase FreeWater tak, aby výsledný objem byl právě 11 μl).

Tabulka 3.13 Složení výsledného multiplexu

| Označení primeru | Barva v multiplexu |
|------------------|--------------------|
| MR_01 | modrý (6FAM™) |
| MR_08 | zelený (VIC®) |
| MR_09 | červený (PET®) |
| MR_12 | žlutý (NED™) |
| MR_13 | modrý (6FAM™) |
| MR_44 | žlutý (NED™) |

Tabulka 3.14 Reakční směs pro multiplex mikrosatelitových primerů

| Reaktant | Objem (μl) |
|--------------------------|------------|
| Qiagen Multiplex PCR Kit | 5 |
| Q Solution | 1 |
| Multiplex primerů | 1 |
| RNAse Free Water | 2–3 |
| DNA (5–10 ng/μl) | 1–2 |

Na rozdíl od testování již nebyla prováděna kontrola průběhu PCR reakce pomocí elektroforézy. Vzorky byly rovnou denaturovány a odeslány na fragmentační analýzu podle postupu uvedeného v předcházející kapitole 3.3.4.

3.3.6 Analýza dat

3.3.6.1 Editace výstupu fragmentační analýzy

Data získaná fragmentační analýzou byla upravena v programu GeneMarker verze 1.80 (SoftGenetics). V tomto programu byla provedena detekce mikrosatelitových alel. Správnost kalibrace délky alel byla ověřena a případně manuálně upravena podle fluorescence standardu LIZ500. Program většinu alel označil správně, avšak všechny vzorky byly překontrolovány. Chybně označená maxima byla smazána a naopak nedetekované alely označeny, pokud svým tvarem v chromatogramu odpovídaly mikrosatelitovým alelám. Výsledný dataset byl exportován ve formátu xlsx pro další analýzy.

3.3.6.2 Základní charakteristiky

Pro potřeby analýzy mikrosatelitových lokusů byly lokality, z nichž byl materiál k dispozici, sloučeny do skupin, které zahrnovaly geograficky blízké lokality. Použita byla stejná kritéria jako při slučování lokalit pro populační analýzy pomocí mitochondriálních genů (viz kapitulu 3.2.7.5), zde však nebylo bráno v úvahu rozdělení populací u jedinců spadajících do různých linií (podle mitochondriálních dat) z jedné lokality. K detekci nulových alel byl použit program FreeNA (Chapuis a Estoup 2007) s nastavením „Number of replicates“ = 10 000. Z tohoto programu byly získány odhady frekvence nulových alel pro jednotlivé populace a dále matice hodnot s párovými a globálními hodnotami F_{ST} (Weir 1996) a to jednak s korekcí na nulové alely (Chapuis a Estoup 2007) a také bez této korekce. Shoda mezi distančními maticemi párových hodnot F_{ST} (s korekcí na nulové alely a bez ní) byla zjištěna pomocí Mantelova testu v programu R verze 3.2.2 (R Core Team 2015) s použitím balíku ade4 (Chessel et al. 1995). Protože chybějící data na stejných pozicích v distančních maticích negativně ovlivňovaly výsledky Mantelova testu, byly pro tuto analýzu vyřazeny lokality, z nichž byl k dispozici pouze jeden vzorek. Genová vazba byla testována v programu Genepop verze 4.5.1 (Rousset 2008) s výchozím nastavením.

Pro lokality z nichž byl k dispozici dostatek vzorků ($n \geq 10$), byla dále v programu Genepop vypočítána odchylka od Hardy-Weinbergovy rovnováhy a pozorované a očekávané heterozygotnosti. Počty privátních alel byly spočítány v programu R s použitím balíku PopGenKit (Paquette 2012).

3.3.6.3 Populační struktura

Ke zjištění populační struktury na základě analýzy mikrosatelitů byl použit program Structure verze 2.3.4 (Pritchard et al. 2000). Na základě Bayesovských metod tento program umožňuje odlišit geneticky homogenní skupiny jedinců. Nejprve bylo v tomto programu otestováno rozdělení pro počty skupin $K = 1-30$. Byl pro to použit Admixture model s parametry „Length of Burnin Period“ = 1 000, „Number of MCMC Reps after Burnin“ = 10 000 a 10 opakováními pro každé K . Výsledky byly sumarizovány v programu R s použitím skriptu Structure-sum-2009 (Evanno et al. 2005). Pomocí tohoto skriptu byly nalezeny optimální počty skupin, do kterých se jednotlivé populace rozpadají. Následně byla opět provedena analýza v programu

Structure pro nejlepší zjištěná K, byl použit stejný model, počet opakování (10) a parametry „Length of Burnin Period“ = 10 000, „Number of MCMC Reps after Burnin“ = 1 000 000. Výsledky byly graficky vizualizovány pomocí online verze programu CLUMPAK (Kopelman et al. 2015). V tomto programu byl rovněž pomocí nástroje „Best K“, určen statisticky nejlépe podpořený počet skupin K.

3.4 Modelování rozšíření

3.4.1 Model MaxEnt

K modelování rozšíření kudlanky nábožné byl použit model MaxEnt (Phillips et al. 2006). Vstupní data pro tento program tvořily lokality, z nichž pocházely vzorky z této práce, několik záznamů o výskytu kudlanek v Srbsku poskytli Djordje Markovic a Vuk Ristic-Gajic a dále záznamy z databáze Global Biodiversity Information Facility (GBIF – www.gbif.org). Všechny dále popisované vstupní úpravy dat byly provedeny v programu ArcGIS verze 10.2 s použitím toolboxu SDMtoolbox verze 1.1c (Brown 2014). K predikci byly použity klimatické rastry z databáze WorldClim (Hijmans et al. 2005). Konkrétně byly vybrány vrstvy v rozlišení 2,5 úhlové minuty, které byly následně oříznuty rovnoběžkami 30N a 60N a poledníky 10W a 50E. Tato klimatická data byla dále testována na vzájemnou korelaci, protože lze očekávat, že některé odvozené proměnné jsou v přímém vztahu s přímo měřenými proměnnými, které lépe odrážejí podmínky na lokalitě. Pro následné analýzy tak byly odstraněny odvozené proměnné, jejichž hodnota Pearsonova korelačního koeficientu byla vyšší než 0,7. Protože záznamy z některých oblastí výrazně převažovaly, bylo nutné provést jejich filtraci k dosažení rovnoměrného zastoupení v rámci studované oblasti. To bylo provedeno pomocí nástroje k odstranění prostorově korelovaných záznamů, rozlišení pro filtraci dat bylo zvoleno 50 km. Pro modely středního holocénu (6000 let před dneškem) a glaciálního maxima (22 000 let před dneškem) byly použity pro srovnání dva klimatické modely z výše zmíněné databáze: CCSM4 a MIROC-ESM opět s vyloučením vysoce korelovaných klimatických proměnných. Finální výpočet probíhal přímo v programu MaxEnt verze 3.3.3. (Phillips et al. 2006), který byl spuštěn s výchozím nastavením a parametrem „training presences“ = 10 %. Celkem bylo provedeno 10 výpočtů, z nichž byl spočítán průměr. Ke zhodnocení spolehlivosti získaných výsledků byly použity hodnoty AUC (Elith et al. 2010; Hanley a McNeil 1982).

4 Výsledky

4.1 Analýza mitochondriálních genů

4.1.1 Vstupní data

Amplifikací mitochondriálních genů pro cytochrom oxidázu I (COI), cytochrom oxidázu II (COII) a cytochrom b (Cyt b) se podařilo získat sekvence z jedinců *M. religiosa* a zástupců dalších druhů kudlanek, použité v některých analýzách jako outgroups, konkrétně byly použity vzorky z jedinců rodů *Ameles*, *Hierodula*, *Iris* a *Sphodromantis*. V rámci této práce byly úspěšně osekvenovány úseky genů COI od 129 jedinců *M. religiosa* a 8 jedinců outgroups, COII od 124 jedinců *M. religiosa* a 8 jedinců outgroups a Cyt b od 126 jedinců *M. religiosa* a 8 jedinců outgroups. Pro analýzy byly dále použity sekvence získané Mgr. Hanou Parčovou v její diplomové práci (Urbánková 2012). Celkem se jednalo (včetně outgroups) o 123 sekvencí pro gen COI, 123 sekvencí pro gen COII a 118 sekvencí pro gen Cyt b. Taktéž byly analyzovány sekvence *M. religiosa* pro všechny tři geny COI, COII, Cyt b publikované v práci Linn a Griebeler (2015). Z této publikace bylo převzato celkem 49 sekvencí pro každý gen. Dále byly použity sekvence z databáze GeneBank a to 3 v případě COI (z toho 2 outgroups; GeneBank No.: EF383796, FJ802905, FJ802915), 4 v případě COII (z toho 3 outgroups; AY491270, FJ807023, FJ806891, ALG66327) a 1 v případě Cyt b (pouze outgroup; ALG66336). Celkové počty použitých sekvencí a délky jednotlivých datasetů pro jednotlivé geny či jejich konkatenáty jsou shrnuty v Tabulce 4.1. Pro rozřazení do haplotypů a následné analýzy (haplotypová síť, odhady genetické distance a analýzy populační struktury) bylo nutné konkatenát COI + COII + Cyt b upravit tak, aby byly zahrnuty pouze vzorky, u nichž byly k dispozici výsledky pro všechny tři geny, čímž se snížil zahrnutý počet jedinců na 287 (jedinci outgroups nebyli zahrnuti). Zároveň bylo nutné v tomto datasetu úseky pro všechny geny zkrátit, aby neobsahovaly pozice s chybějící informací. Údaje o tomto upraveném datasetu jsou rovněž v Tabulka 4.1.

Tabulka 4.1 Datasetsy použité pro fylogenetické analýzy; * u genu COI se lišil počet jedinců použitých pro analýzy – 289 pro Maximum Likelihood, 297 pro Bayesovskou analýzu; ** upravený konkatenát pro rozřazení do haplotypů

| Gen/konkatenát genů | Počet jedinců <i>M. religiosa</i> | Počet jedinců outgroups | Délka úseku (bp) |
|--------------------------------|--|------------------------------------|-----------------------------|
| COI | 289 (297)* | 11 | 750 |
| COII | 295 | 12 | 696 |
| Cyt b | 290 | 9 | 664 |
| COI + COII | 297 | 12 | 1446 |
| COI + Cyt b | 297 | 12 | 1414 |
| COII + Cyt b | 297 | 12 | 1360 |
| COI + COII + Cyt b | 297 | 12 | 2110 |
| COI + COII + Cyt b** | 287 | 0 | 1656 |

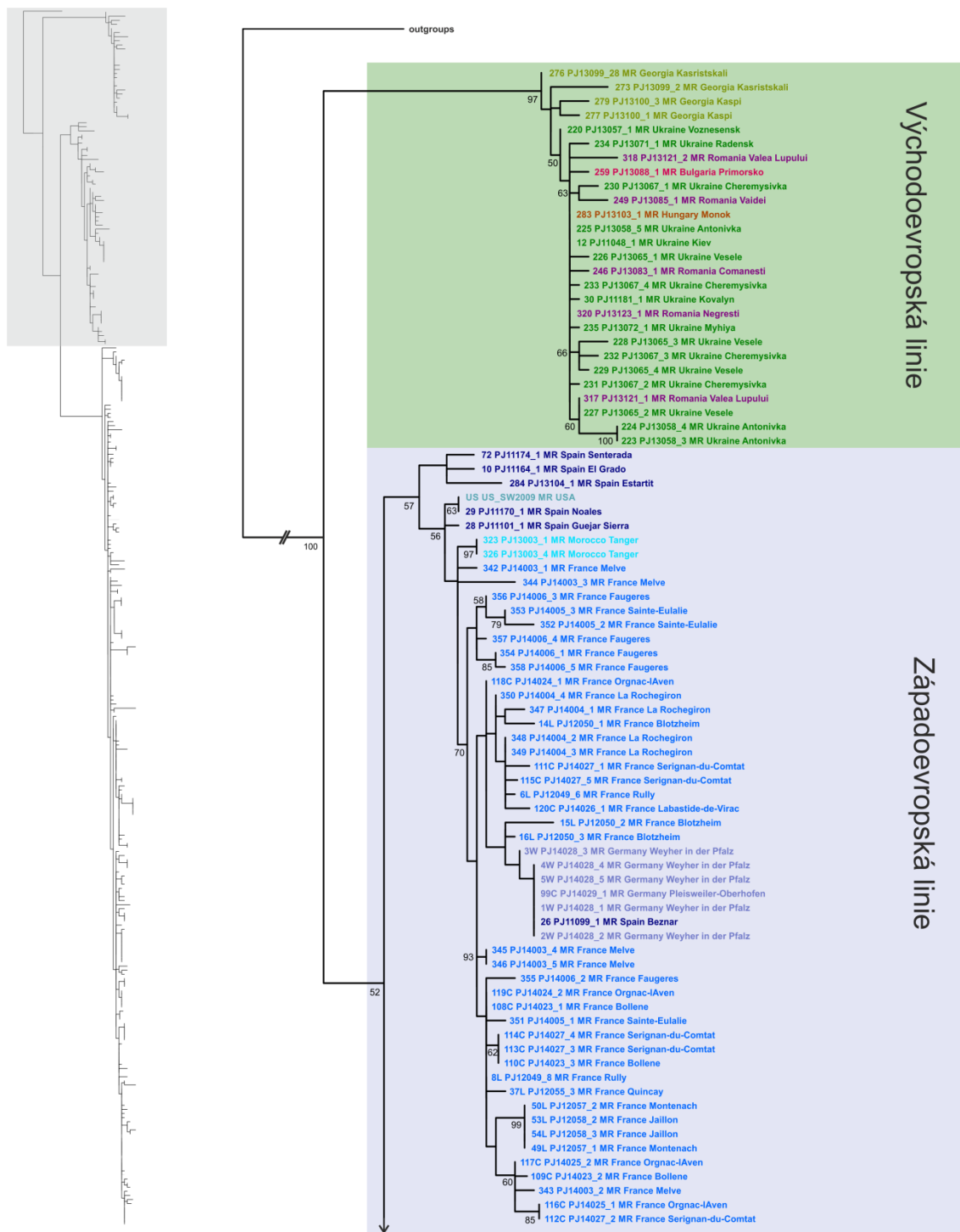
4.1.2 **Fylogenetické analýzy**

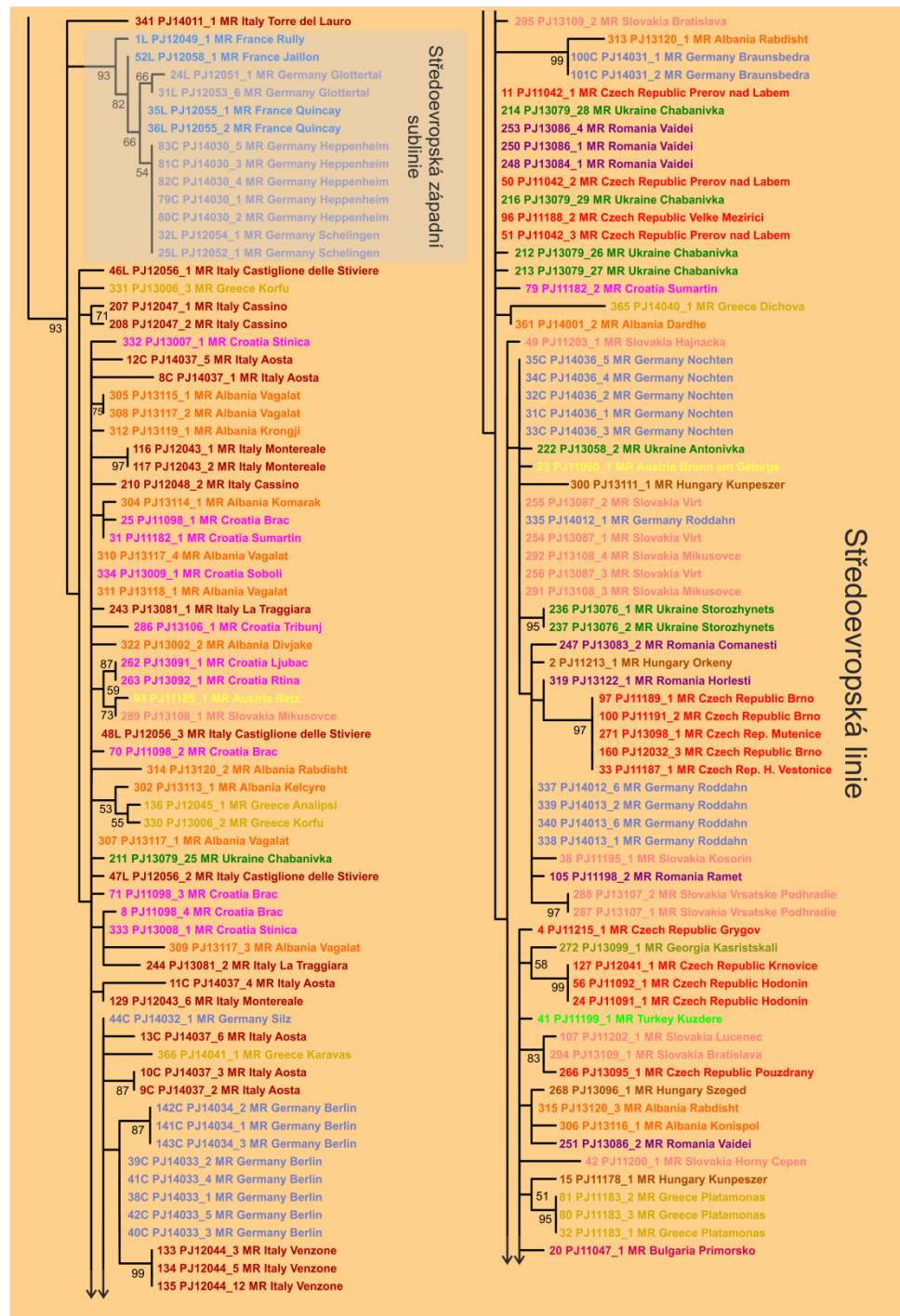
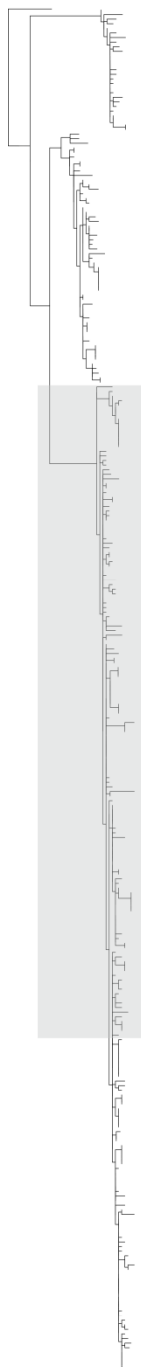
Získané sekvence byly zanalyzovány metodou Maximum Likelihood a Bayesovskou analýzou. Zmíněné analýzy byly provedeny jak pro jednotlivé geny, tak i konkatenáty dvojic genů a konkatenát všech tří genů. Na následujících stranách jsou uvedeny výsledné fylogenetické stromy pouze pro konkatenát COI + COII + Cyt b, ostatní zmiňované stromy jsou uvedeny v elektronické příloze diplomové práce.

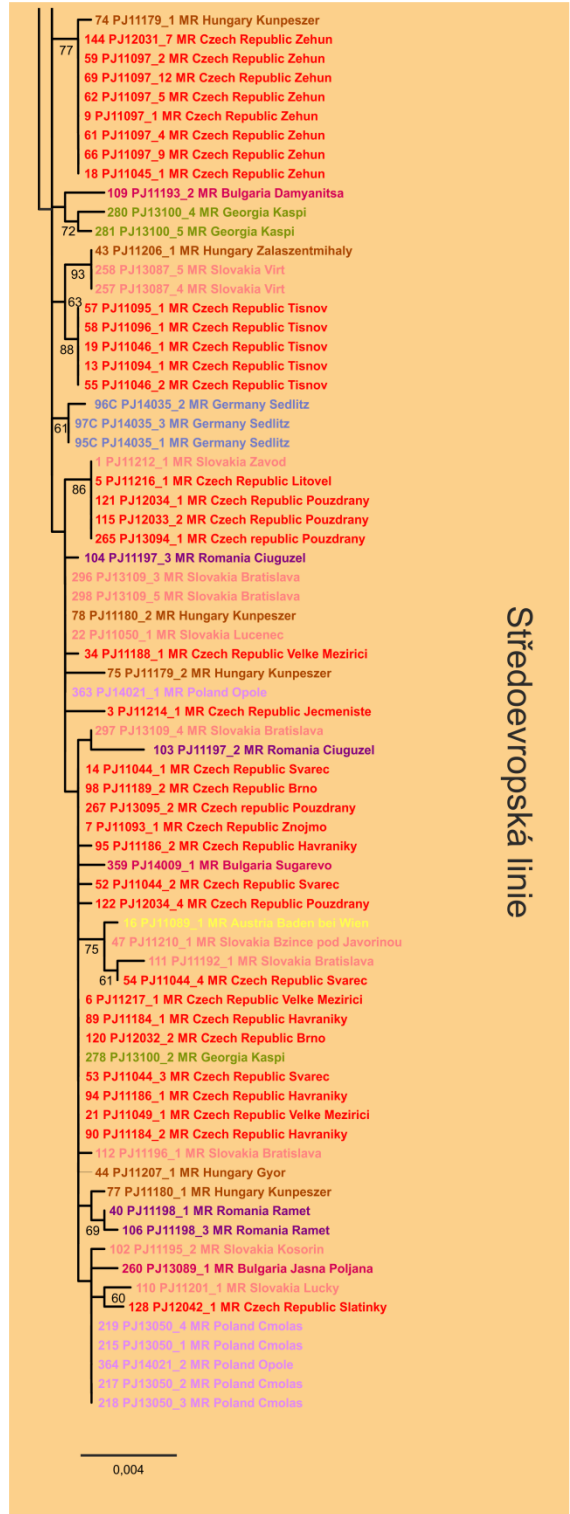
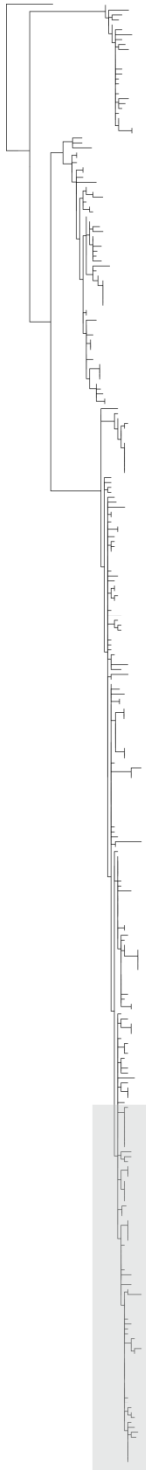
4.1.2.1 **Analýza Maximum Likelihood**

Ve fylogenetickém stromě určeném metodou Maximum Likelihood je patrná existence tří oddělených linií (viz Obrázek 4.1). Velmi dobře podpořená (hodnota bootstrapu je „97“) je linie vzorků z východní Evropy (dále nazývaná jako východoevropská linie), zahrnující jedince z Gruzie, Ukrajiny, Rumunska, Bulharska a Maďarska. Tato linie, i když s poměrně nízkou podporou („52“), je sesterskou ke zbývajícím dvěma liniím. Druhou linii (západoevropská linie, „57“) tvoří jedinci z Francie, Německa, Španělska a Maroka, rovněž sem spadá sekvence jedince ze Spojených Států. Třetí a nejvíce zastoupenou je linie tzv. středoevropská („93“), kterou zastupují jedinci především ze střední Evropy, balkánského a apeninského poloostrova. Jsou zde však rovněž zastoupeny některé vzorky z Gruzie, Ukrajiny a jeden turecký jedinec. V rámci této linie se rovněž vyskytuje dobře podpořený („93“) klastř jedinců z jihovýchodního Německa a Francie, tzv. středoevropská západní sublinie. Mimo tuto sublinii a některé korunové skupiny je rozlišení topologie v rámci jednotlivých linií velmi nízce podpořeno.

Obrázek 4.1 **Fylogenetický strom** vypočítaný pro konkatenát mitochondriálních genů COI + COII + Cyt b použitím metody Maximum Likelihood. V uzlech jsou uvedeny hodnoty bootstrapu ≥ 50 . Pokračování stromu je na dalších stranách.







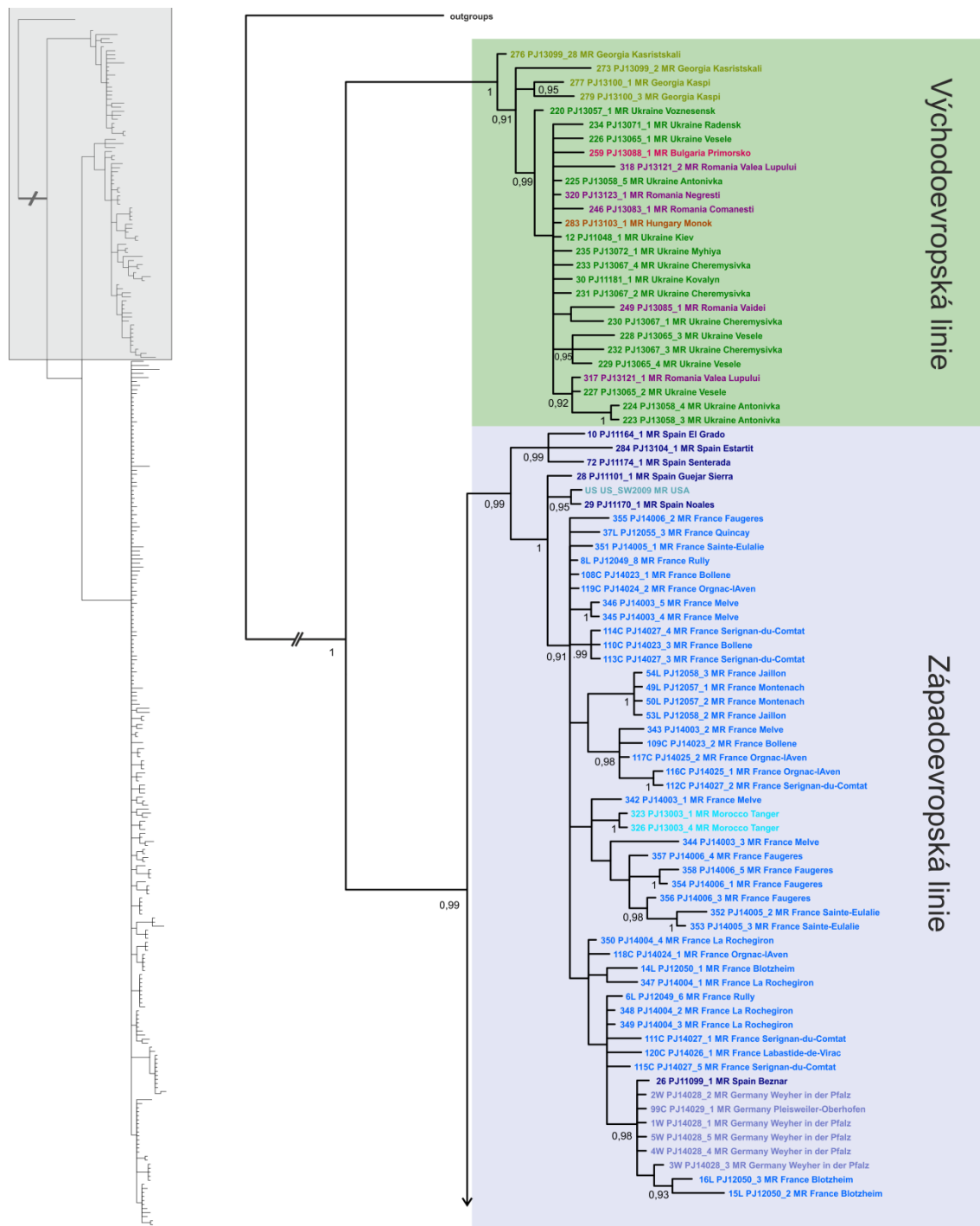
Stredoevropská linie

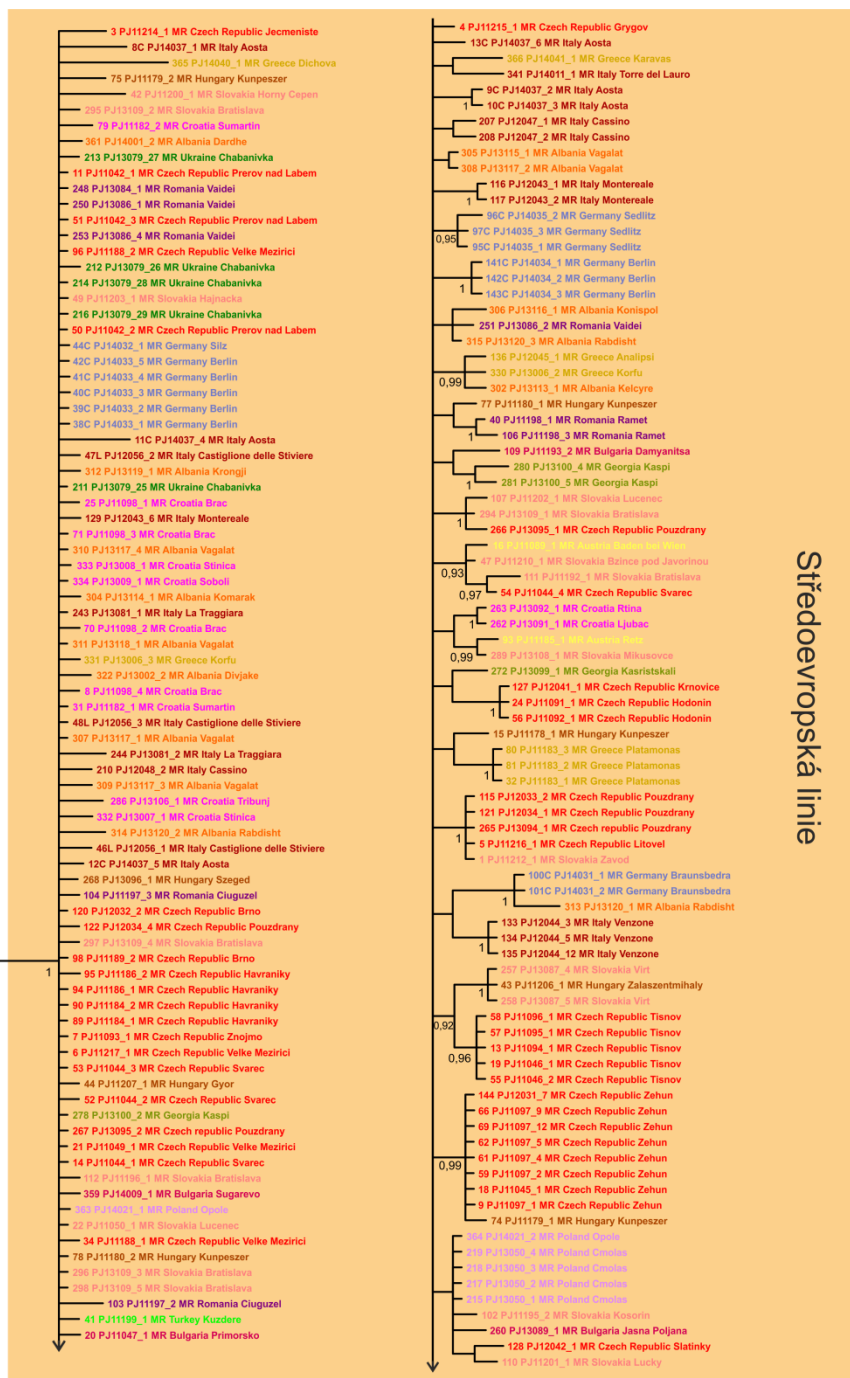
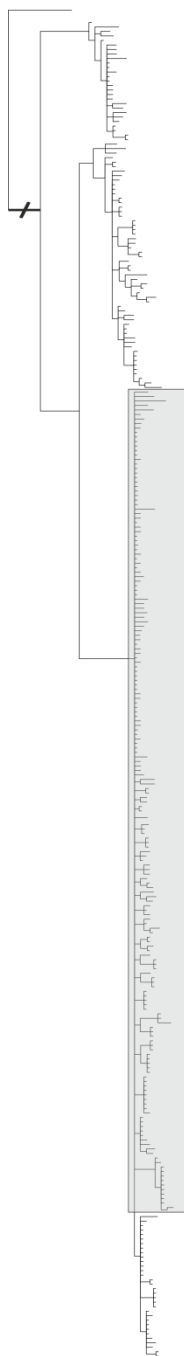
- Georgia
- Ukraine
- Spain
- USA
- France
- Morocco
- Germany
- Poland
- Croatia
- Albania
- Czech Republic
- Slovakia
- Bulgaria
- Italy
- Hungary
- Romania
- Greece
- Austria
- Turkey

4.1.2.2 Bayesovská analýza

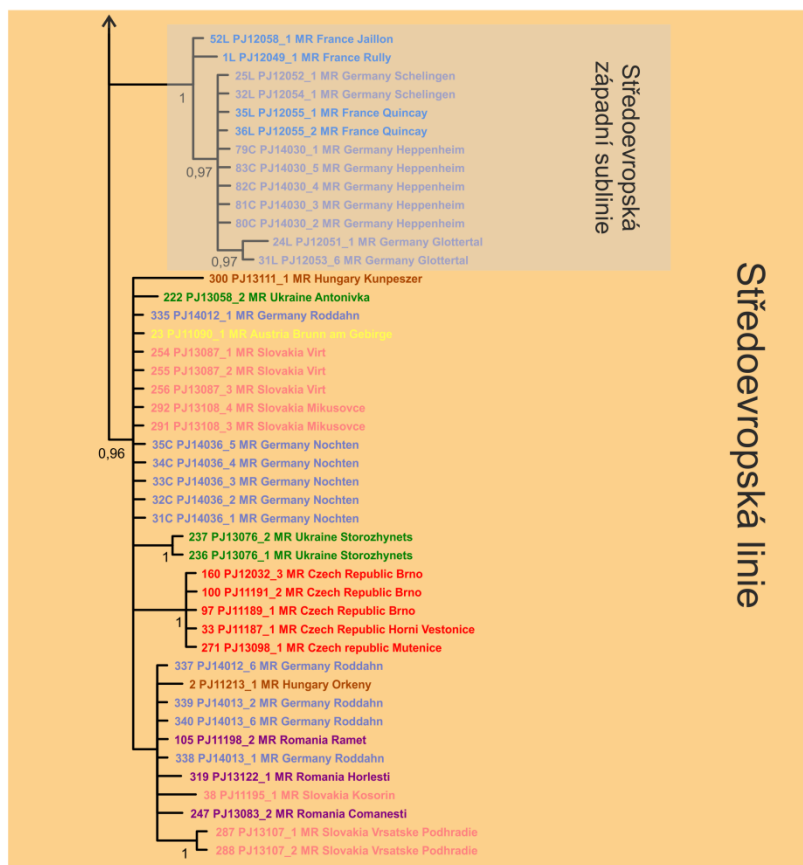
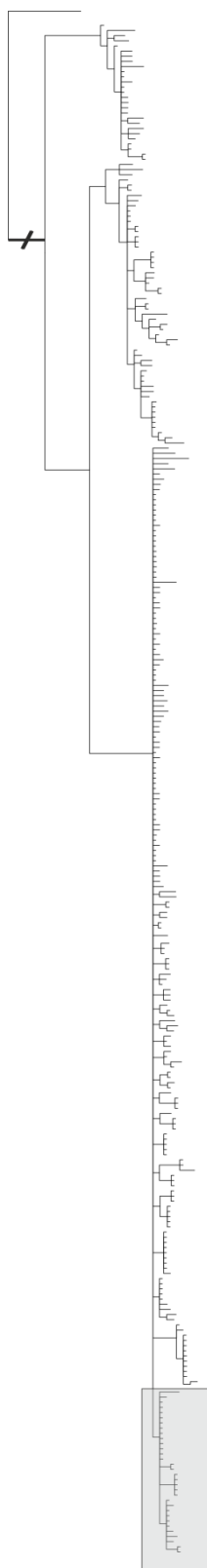
Konsenzuální fylogenetický strom vypočtený Bayesovskou metodou ukazuje tři statisticky dobře podpořené linie, viz Obrázek 4.2. První linií (hodnota posteriorní pravděpodobnosti je „1“) je tzv. východoevropská linie. V této linii jsou jedinci z Gruzie, Ukrajiny, Rumunska a po jednom jedinci z Bulharska a Maďarska. Východoevropská linie je oddělena („0,99“) od zbývajících dvou linií. Jedinci pocházející z Francie, Německa, Španělska, Maroka a vzorek ze Spojených Států spadají do druhé velké linie – západoevropské („0,99“). Poslední linií je linie středoevropská („1“), pro kterou bylo k dispozici nejvíce vzorků. Jsou v ní zastoupeni jedinci ze střední Evropy, balkánského a apeninského poloostrova. Spadají sem také někteří jedinci z Gruzie, západní Ukrajiny a jeden vzorek z Turecka. Uvnitř poslední jmenované linie se vyskytuje vysoce podpořený („1“) klastér jedinců z Německa a Francie – tvoří středoevropskou západní sublinii.

Obrázek 4.2 Konsenzuální fylogenetický strom vypočítaný pro konkaténát mitochondriálních genů COI + COII + Cyt b použitím metody Bayesovské analýzy. V uzlech jsou uvedeny hodnoty posteriorní pravděpodobnosti $\geq 0,9$. Pokračování stromu je na dalších stranách.





Středoevropská linie



Georgia
Ukraine
Spain
USA
France
Morocco
Germany
Poland
Croatia
Albania

Czech Republic
Slovakia
Bulgaria
Italy
Hungary
Romania
Greece
Austria
Turkey

4.1.3 Haplotypová diverzita

Tabulka 4.2 uvádí rozřazení všech analyzovaných vzorků *M. religiosa* do 69 populací dle kritérií uvedených v kapitole 3.2.7.5, dále jejich konkrétní zjištěné haplotypy (pomocí serveru FaBox), včetně základních populačních charakteristik zjištěných v programu Arlequin. Celkem bylo detekováno 159 haplotypů.

Tabulka 4.2 Přehled populací s přiřazením haplotypů; Linie: středoevropská (S), západní (Z), klastř západoevropských jedinců ve středoevropské linii (S/Z), východní (V); **Π:** nukleotidová diverzita; **H:** haplotypová diverzita; **Haplotypy:** počet jedinců uveden v závorce, pokud je vyšší než 1; výpočet nukleotidové a haplotypové diversity byl proveden pro sloučené lokality (označeno *), pro více informací viz metodiku – kapitola 3.2.7.5.

| Číslo populace | Stát | Lokalita | Počet jedinců | Linie | Π | H | Haplotypy |
|----------------|----------------|------------------|---------------|-------|----------|--------|---------------------|
| 1 | Albania | Konispol | 1 | S | 0,001537 | 0,8182 | 39 |
| | | Krongji | 1 | S | – | – | 41 |
| | | Vagalat | 6 | S | – | – | 40 (5), 63 |
| | Greece | Analipsi | 1 | S | – | – | 58 |
| | | Korfu | 2 | S | – | – | 51, 59 |
| 2 | Albania | Këlcyrë | 1 | S | 0,002415 | 1,0000 | 60 |
| | | Komararak | 1 | S | – | – | 48 |
| 3 | Albania | Divjakë | 1 | S | 0,000000 | 1,0000 | 52 |
| 4 | Albania | Rabdisht | 3 | S | 0,006039 | 1,0000 | 2, 66, 69 |
| 5 | Austria | Baden bei Wien | 1 | S | 0,002415 | 1,0000 | 92 |
| | | Brunn am Gebirge | 1 | S | – | – | 23 |
| 6 | Czech Republic | Havraníky | 4 | S | 0,001323 | 0,7143 | 78 (3), 81 |
| | | Ječmeniště | 1 | S | – | – | 3 |
| | | Znojmo | 1 | S | – | – | 78 |
| | Austria | Retz | 1 | S | – | – | 54 |
| 7 | Czech Republic | Brno | 5 | S | 0,002024 | 0,8552 | 18 (3), 78 (2) |
| | | Grygov | 1 | S | – | – | 78 |
| | | Hodonín | 2 | S | – | – | 91 (2) |
| | | Horní Věstonice | 1 | S | – | – | 18 |
| | | Litovel | 1 | S | – | – | 73 |
| | | Mutěnice | 1 | S | – | – | 18 |
| | | Pouzdrany | 6 | S | – | – | 73 (3), 78, 79, 104 |
| | | Švařec | 4 | S | – | – | 78 (3), 84 |
| | | Tišnov | 5 | S | – | – | 98 (5) |
| | | Velké Meziříčí | 4 | S | – | – | 31, 78 (2), 90 |
| 8 | Czech Republic | Krňovice | 1 | S | 0,001382 | 0,5303 | 91 |
| | | Prerov nad Labem | 3 | S | – | – | 31 (3) |

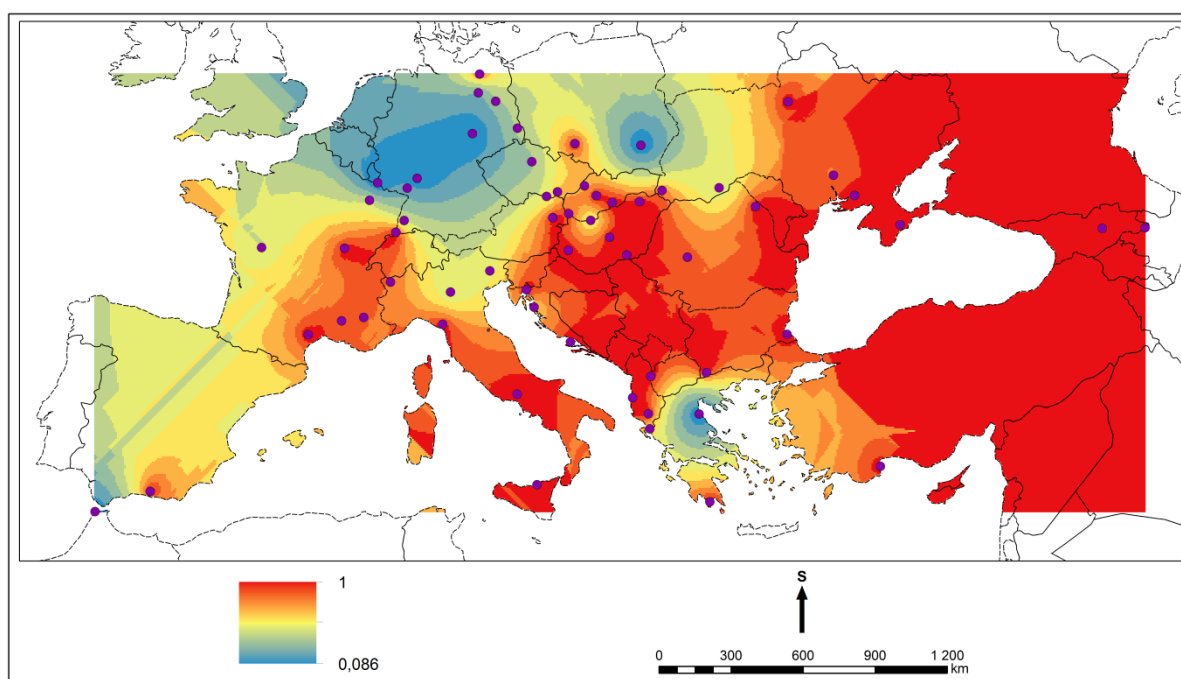
| | | | | | | | |
|-----|----------|----------------------|---|---|----------|--------|-------------------------|
| | | Žehuň | 8 | S | – | – | 71 (8) |
| 9 | Slovakia | Bzince pod Javorinou | 1 | S | 0,002415 | 0,8667 | 78 |
| | | Mikušovce | 3 | S | – | – | 19 (2), 55 |
| | | Vršatské Podhradie | 2 | S | – | – | 25 (2) |
| 10 | Slovakia | Bratislava | 6 | S | 0,001963 | 0,9643 | 27, 78 (2), 80, 85, 102 |
| | | Horný Čepč | 1 | S | – | – | 15 |
| | | Závod | 1 | S | – | – | 73 |
| 11 | Hungary | Győr | 1 | S | 0,001570 | 0,7333 | 83 |
| | Slovakia | Virt | 5 | S | | | 19 (3), 97 (2) |
| 12 | Slovakia | Kosorín | 2 | S | 0,003019 | 1,0000 | 20, 87 |
| 13 | Slovakia | Hajnáčka | 1 | S | 0,001610 | 1,0000 | 33 |
| | | Lučenec | 2 | S | | | 78, 99 |
| 14 | Slovakia | Lucky | 1 | S | 0,001812 | 0,9333 | 93 |
| | Ukraine | Chabanivka | 5 | S | | | 30, 31 (2), 32, 42 |
| 15 | Hungary | Monok | 1 | V | 0,000000 | 1,0000 | 141 |
| 16 | Hungary | Kunpeszér | 6 | S | 0,003106 | 1,0000 | 14, 16, 72, 74, 78, 100 |
| | | Örkény | 1 | S | – | – | 22 |
| 17 | Hungary | Zalaszentmihály | 1 | S | 0,000000 | 1,0000 | 97 |
| 18 | Hungary | Szeged | 1 | S | 0,000000 | 1,0000 | 69 |
| 19 | Germany | Silz | 1 | S | 0,000000 | 1,0000 | 31 |
| 20 | Germany | Roddahn | 5 | S | 0,000242 | 0,4000 | 19, 20 (4) |
| 21 | Germany | Berlin | 8 | S | 0,000647 | 0,5357 | 36 (3), 37 (5) |
| 22 | Germany | Nochten | 5 | S | 0,001121 | 0,6071 | 19 (5), |
| | | Sedlitz | 3 | S | – | – | 11, 12 (2) |
| 23 | Germany | Braunsbedra | 2 | S | 0,000000 | 0,0000 | 1 (2) |
| 24 | Poland | Opole | 1 | S | 0,000000 | 1,0000 | 77 |
| 25 | Poland | Cmolas | 4 | S | 0,000000 | 0,0000 | 77 (4) |
| 26 | Romania | Horlești | 1 | S | 0,001610 | 0,6667 | 26 |
| | Ukraine | Storozhynets | 2 | S | – | – | 21 (2) |
| 27 | Romania | Valea Lupului | 2 | V | 0,001610 | 1,0000 | 146, 148 |
| | | Negrești | 1 | V | – | – | 141 |
| 28* | Bulgaria | Primorsko | 1 | V | 0,015700 | 1,0000 | 144 |
| 29* | Romania | Ciuguzel | 2 | S | 0,008006 | 0,9545 | 75, 94 |
| | | Comănești | 1 | S | – | – | 20 |
| | | Râmeț | 3 | S | – | – | 24, 82, 86 |
| | | Vaidei | 4 | S | – | – | 31 (3), 69 |
| 30* | Bulgaria | Jasna Poljana | 1 | S | 0,015700 | 1,0000 | 89 |
| | | Primorsko | 1 | S | – | – | 78 |
| 31 | Bulgaria | Damyantsa | 1 | S | 0,003019 | 1,0000 | 76 |
| | | Sugarevo | 1 | S | – | – | 88 |
| 32 | Greece | Platamonas | 3 | S | 0,000000 | 0,0000 | 105 (3) |
| 33 | Greece | Dichova | 1 | S | 0,005435 | 1,0000 | 13 |
| | | Karavas | 1 | S | – | – | 29 |
| 34 | Turkey | Kuzdere | 1 | S | 0,000000 | 1,0000 | 101 |

| | | | | | | | |
|-----|---------|----------------------------|---|-----|----------|--------|-------------------------|
| 35 | Croatia | Brač | 4 | S | 0,001783 | 1,0000 | 43, 46, 50, 53 |
| | | Sumartin | 2 | S | – | – | 28, 56 |
| | | Tribunj | 1 | S | – | – | 64 |
| 36 | Croatia | Ljubač | 1 | S | 0,000604 | 0,8333 | 40 |
| | | Rtina | 1 | S | – | – | 40 |
| | | Stinica | 2 | S | – | – | 47, 65 |
| 37 | Croatia | Soboli | 1 | S | 0,000000 | 1,0000 | 40 |
| 38 | Italy | Montereale | 3 | S | 0,002617 | 0,7333 | 44, 70 (2) |
| | | Venzone | 3 | S | – | – | 4 (3) |
| 39 | Italy | Castiglione delle Stiviere | 3 | S | 0,000805 | 0,6667 | 40 (2), 67 |
| 40 | Italy | La Traggiara | 2 | S | 0,003019 | 1,0000 | 49, 57 |
| 41 | Italy | Aosta | 6 | S | 0,003261 | 0,9333 | 10, 35 (2), 38, 68, 106 |
| 42 | Italy | Cassino | 3 | S | 0,001610 | 1,0000 | 45, 61, 62 |
| 43 | Italy | Torre del Lauro | 1 | S | 0,000000 | 1,0000 | 34 |
| 44 | Morocco | Tanger | 2 | Z | 0,000000 | 0,0000 | 130 (2) |
| 45 | France | Faugères | 5 | Z | 0,002778 | 1,0000 | 113, 114, 116, 117, 127 |
| 46 | France | Bollène | 3 | Z | 0,002642 | 0,9583 | 123, 135, 137 |
| | | Labastide-de-Virac | 1 | Z | – | – | 134 |
| | | Orgnac-l’Aven | 4 | Z | – | – | 111, 123, 132, 138 |
| | | Sainte-Eulalie | 3 | Z | – | – | 118, 119, 121 |
| | | Sérignan-du-Comtat | 5 | Z | – | – | 111, 133, 135 (2), 136 |
| 47 | France | La Rochegiron | 4 | Z | 0,002684 | 0,9444 | 120 (2), 125, 128 |
| | | Melve | 5 | Z | – | – | 107, 126 (2), 129, 131 |
| 48* | France | Quinçay | 2 | S/Z | 0,009662 | 0,6667 | 7 (2) |
| 49* | France | Rully | 2 | Z | 0,009662 | 1,0000 | 120, 123 |
| 50* | France | Jaillon | 2 | Z | 0,009662 | 0,6667 | 122 (2) |
| 51 | France | Montenach | 2 | Z | 0,000000 | 0,0000 | 122 (2) |
| 52 | France | Blotzheim | 3 | Z | 0,003623 | 1,0000 | 109, 110, 124 |
| 53 | Germany | Glottertal | 2 | S/Z | 0,000403 | 0,6667 | 6 (2) |
| | | Schelingen | 2 | S | | | 7 (2) |
| 54 | Germany | Pleisweiler-Oberhofen | 1 | Z | 0,000201 | 0,3333 | 108 |
| | | Weyher in der Pfalz | 5 | Z | – | – | 108 (4), 112 |
| 55 | Germany | Heppenheim | 5 | S/Z | 0,000000 | 0,0000 | 7 (5) |
| 56 | Spain | Béznar | 1 | Z | 0,000000 | 1,0000 | 108 |
| 57* | Georgia | Kasristskali | 2 | V | 0,017311 | 1,0000 | 139, 157 |
| 58* | Georgia | Kaspi | 3 | S | 0,015097 | 1,0000 | 78, 95, 96 |
| 59 | Ukraine | Cheremysivka | 4 | V | 0,002437 | 1,0000 | 150, 152, 154, 155 |
| | | Vesele | 4 | V | – | – | 142, 143, |

| | | | | | | | |
|-----|---------|--------------|---|-----|----------|--------|--------------|
| | | | | | | | 148, 153 |
| 60 | Ukraine | Radens'k | 1 | V | 0,000000 | 1,0000 | 141 |
| 61* | Ukraine | Antonivka | 3 | V | 0,008937 | 0,9333 | 141, 145 (2) |
| | | Myhiya | 1 | V | – | – | 149 |
| | | Voznesens'k | 1 | V | – | – | 156 |
| 62 | Ukraine | Kiev | 1 | V | 0,000604 | 1,0000 | 141 |
| | | Kovalyn | 1 | V | – | – | 151 |
| 63* | France | Quinçay | 1 | Z | 0,009662 | 0,6667 | 115 |
| 64* | France | Rully | 1 | S/Z | 0,009662 | 1,0000 | 9 |
| 65* | France | Jaillon | 1 | S/Z | 0,009662 | 0,6667 | 8 |
| 66* | Georgia | Kasristskali | 1 | S | 0,017311 | 1,0000 | 103 |
| 67* | Georgia | Kaspi | 2 | V | 0,015097 | 1,0000 | 158, 159 |
| 68* | Ukraine | Antonivka | 1 | S | 0,008937 | 0,9333 | 17 |
| 69* | Romania | Comănești | 1 | V | 0,008006 | 0,9545 | 147 |
| | | Vaidei | 1 | V | – | – | 140 |

Ke zhodnocení prostorového rozmístění genetické diverzity *M. religiosa* v Evropě byla použita haplotypová diverzita vypočtená v programu Arlequin. Výsledky výpočtu odhadu průběhu haplotypové diverzity (údaje v Tabulka 4.2) jsou graficky znázorněny na Obr. 4.3. Tato mapa byla vytvořena pomocí interpolační metody kriging v programu ArcGIS pro 61 populací (viz metodiku – kapitola 3.2.7.5), červenější barva odpovídá vyšší diverzitě. Z mapy je patrný přibližně severojižní gradient v průběhu haplotypové diverzity. V populacích ve východní části areálu je vysoká haplotypová diverzita.

Obrázek 4.3 Odhadovaná haplotypová diverzita *M. religiosa* v Evropě. Vytvořeno pomocí interpolační metody kriging v programu ArcGIS pro 61 populací. Červenější barva odpovídá vyšší haplotypové diverzitě



4.1.4 Výpočet genetické distance

Pro výpočet genetické distance uvnitř linií (Tabulka 4.3) a mezi liniemi (Tabulka 4.4) byl použit upravený konkatenát (viz kapitulu 4.1.1) všech tří mitochondriálních genů, celkem to bylo 287 sekvencí o konečné délce 1 656 bp.

Tabulka 4.3 Odhad genetické distance uvnitř linií

| Linie | Genetická distance |
|----------------|--------------------|
| Středoevropská | 0,003 |
| Západní | 0,003 |
| Východní | 0,004 |

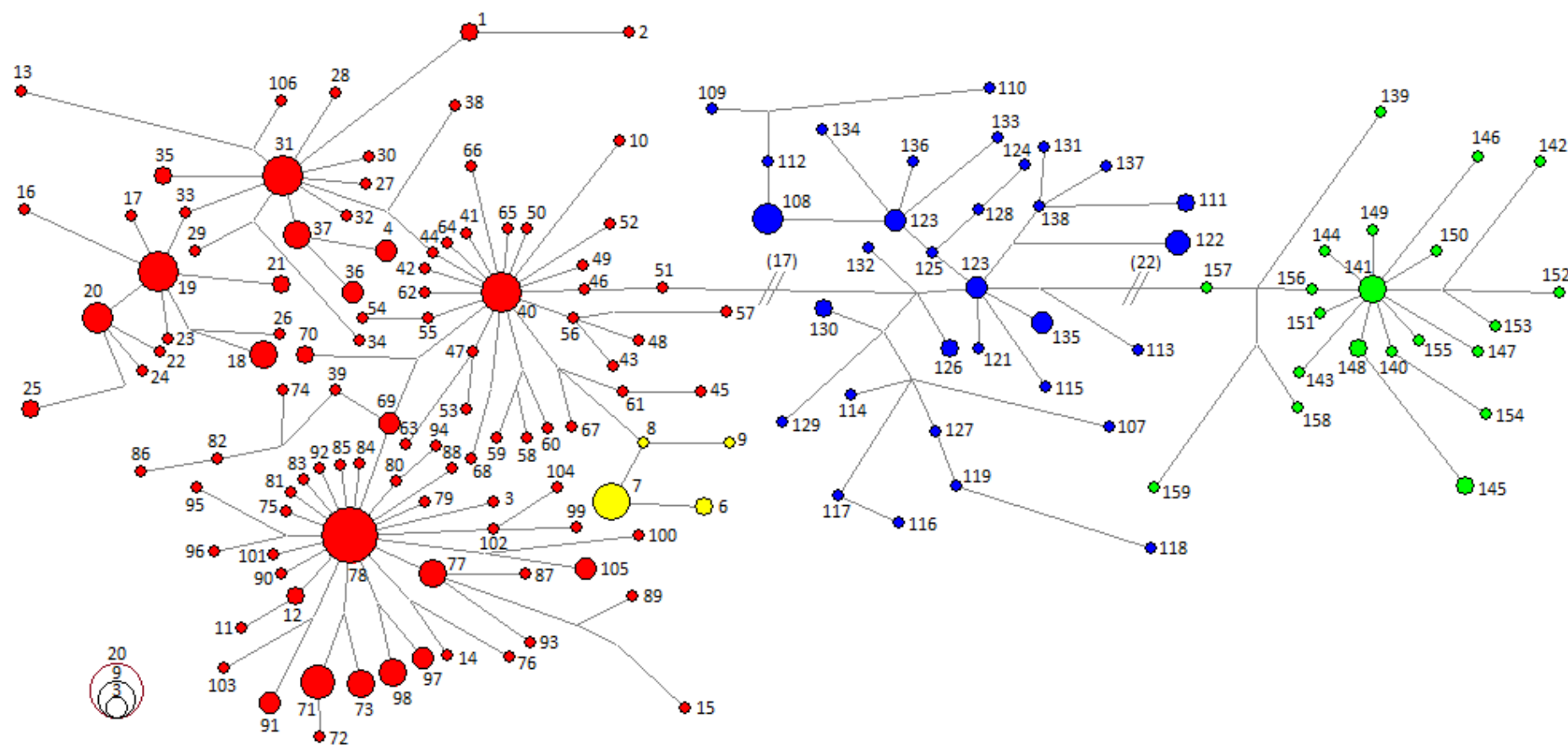
Tabulka 4.4 Odhad genetické distance mezi liniemi

| Linie | Středoevropská | Západní | Východní |
|----------------|----------------|---------|----------|
| Středoevropská | – | – | – |
| Západní | 0,014 | – | – |
| Východní | 0,022 | 0,018 | – |

4.1.5 Haplotypová síť

Haplotypy zjištěné pomocí serveru FaBox, jsou uvedeny v Tabulka 4.2. Tyto haplotypy byly použity pro výpočet haplotypové sítě, viz Obrázek 4.4. Z haplotypové sítě je patrné rozdělení haplotypů do tří skupin. Skupina zelených kruhů odpovídá haplotypům, které nesou jedinci ve východní části Evropy. Tuto skupinu haplotypů odděluje 22 mutací od skupiny ze západoevropské oblasti (v haplotypové síti vyznačeno modrými kruhy). Nejobsáhlejší skupinu středoevropských haplotypů (vyznačených červenými kruhy) pak odděluje 17 mutací od západoevropských haplotypů. Žlutými kruhy jsou vyznačeny haplotypy jedinců, kteří podle provedených fylogenetických analýz spadají na bázi středoevropské linie (středoevropská západní sublinie).

Obrázek 4.4 Haplotypová síť zobrazující vztahy mezi haplotypy konkaténátu mitochondriálních genů COI + COII + Cyt b. Velikost kruhů odpovídá počtu jedinců s daným haplotypem, viz orientační diagram. Čísla haplotypů odpovídají značení v tabulce 4.2. Barevné značení haplotypů: východoevropské – zeleně, západoevropské – modře, středoevropské – červeně, haplotypy středoevropské západní sublinie – žlutě. Relativní délka spojníc odpovídá počtu mutací mezi haplotypy. Počet mutací mezi hlavními skupinami je vyjádřen číslem v závorce nad šikmou dvojčarou.



4.1.6 Populační struktura

Prostorovou analýzou molekulární variance (SAMOVA) bylo otestováno rozdělení populací do skupin (pro počet skupin $K = 2-10$). Pro počet skupin $K = 6$ bylo dosaženo nejvyšší hodnoty diference mezi skupinami (index F_{CT}) a nejvyšší hodnoty genetické homogenity populací uvnitř skupin (index F_{SC}). Nejvyšší změna v hodnotě těchto indexů však byla mezi $K = 2$ a $K = 3$, další zvyšování K tyto hodnoty změnilo jen nevýrazně. Pro počet skupin $K = 6$ některé skupiny obsahovaly málo populací. Z tohoto důvodu bylo pro další analýzy použito rozdělení na tři skupiny. Výsledky analýzy SAMOVA jsou shrnuty v Tabulka 4.5.

Tabulka 4.5 Analýza SAMOVA, p hodnoty: * $p < 0.001$

| Počet skupin | Zdroj heterogenity | Variance (%) | Fixační index |
|--------------|-------------------------------|--------------|----------------------|
| K = 2 | Mezi skupinami | 73,07 | $F_{CT} = 0,73072^*$ |
| | Uvnitř populací | 18,98 | $F_{ST} = 0,92056^*$ |
| | Mezi populacemi uvnitř skupin | 7,94 | $F_{SC} = 0,70498^*$ |
| K = 3 | Mezi skupinami | 81,84 | $F_{CT} = 0,81839^*$ |
| | Uvnitř populací | 7,39 | $F_{ST} = 0,89225^*$ |
| | Mezi populacemi uvnitř skupin | 10,78 | $F_{SC} = 0,40670^*$ |
| K = 4 | Mezi skupinami | 81,96 | $F_{CT} = 0,81957^*$ |
| | Uvnitř populací | 7,21 | $F_{ST} = 0,89164^*$ |
| | Mezi populacemi uvnitř skupin | 10,84 | $F_{SC} = 0,39944^*$ |
| K = 5 | Mezi skupinami | 82,82 | $F_{CT} = 0,82824^*$ |
| | Uvnitř populací | 6,39 | $F_{ST} = 0,89213^*$ |
| | Mezi populacemi uvnitř skupin | 10,79 | $F_{SC} = 0,37199^*$ |
| K = 6 | Mezi skupinami | 82,96 | $F_{CT} = 0,82963^*$ |
| | Uvnitř populací | 6,19 | $F_{ST} = 0,89153^*$ |
| | Mezi populacemi uvnitř skupin | 10,85 | $F_{SC} = 0,36335^*$ |

Analýza SAMOVA vedla (pro $K = 3$) ke stejným výsledkům jako analýza Maximum Likelihood, pouze vzorek PJ13103_1 MR Hungary Monok SAMOVA zařadila mezi střeoevropskou linii (Maximum Likelihood naproti tomu do východní linie). Pro skupiny nalezené analýzou SAMOVA, byly vypočítány základní charakteristiky diverzity, výsledky jsou shrnuty v Tabulka 4.6.

Tabulka 4.6 Charakteristiky diverzity DNA sekvencí, použito rozdělení získané analýzou SAMOVA

| Skupina | Počet vzorků | Počet haplotypů | Počet polymorfních míst | Nukleotidová diverzita | Haplotypová diverzita |
|----------------|--------------|-----------------|-------------------------|------------------------|-----------------------|
| Středoevropská | 212 | 106 | 139 | 0,003 | 0,978 |
| Západní | 49 | 32 | 36 | 0,003 | 0,972 |
| Východní | 26 | 21 | 36 | 0,002 | 0,975 |

Pro tři zjištěné skupiny populací byl dále proveden test Population pairwise FSTs, výsledky jsou v následující Tabulka 4.7.

Tabulka 4.7 Population pairwise FSTs pro tři linie, p hodnoty: *p < 0.001

| Linie | Středoevropská | Západní | Východní |
|----------------|----------------|----------|----------|
| Středoevropská | - | | |
| Západní | 0,78005* | - | |
| Východní | 0,86911* | 0,84012* | - |

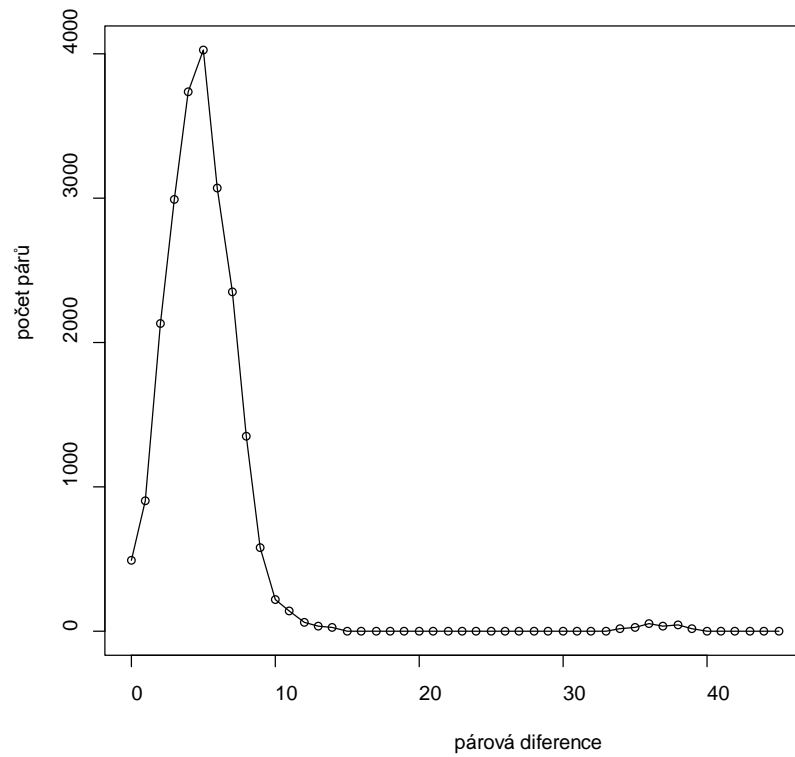
Pro tři skupiny populací nalezené v rámci analýzy SAMOVA byly dále provedeny testy neutrality: Tajima's D test a Fu's Fs test. Z výsledků jsou patrné signifikantně nízké hodnoty Fs pro všechny linie, v případě Tajima's D testu nejsou signifikantní výsledky u skupiny západní. Výsledky zmíněných testů jsou v Tabulka 4.8.

Tabulka 4.8 Výsledky Tajima's D testu a Fu's Fs testu

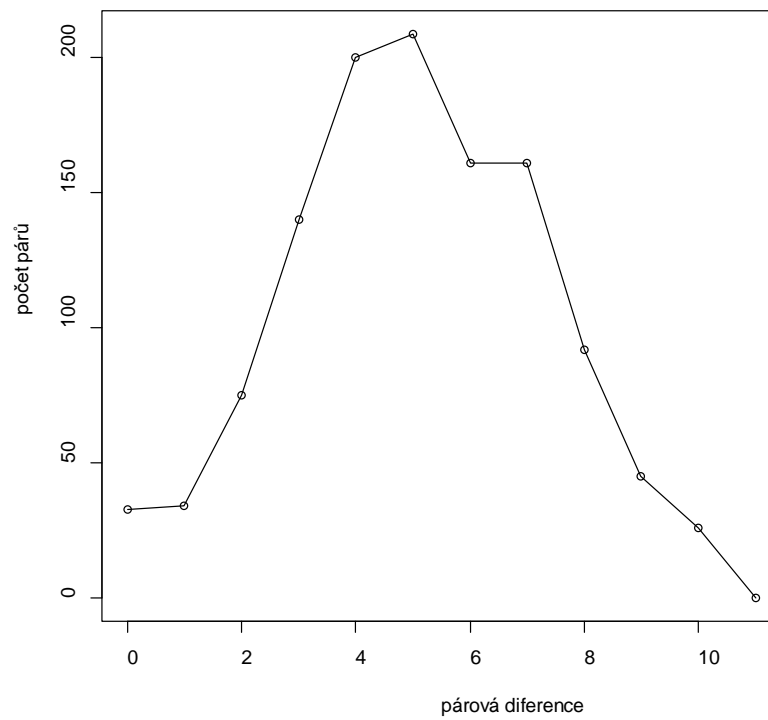
| Skupina populací | Tajima's D test | | Fu's Fs test | |
|------------------|-----------------|-----------|--------------|-----------|
| | Hodnota D | p hodnota | Hodnota Fs | p hodnota |
| Středoevropská | -2,44400 | < 0,001 | -25,14016 | < 0,001 |
| Západní | -1,26708 | 0,07100 | -22,82674 | < 0,001 |
| Východní | -2,15260 | 0,00600 | -16,61660 | < 0,001 |
| průměr | -1,95456 | 0,02567 | -21,52783 | < 0,001 |

Výsledky analýzy Mismatch Distribution (spatial model) jsou v následujících grafech. Pro všechny tři skupiny populací analýza ukázala unimodální charakter.

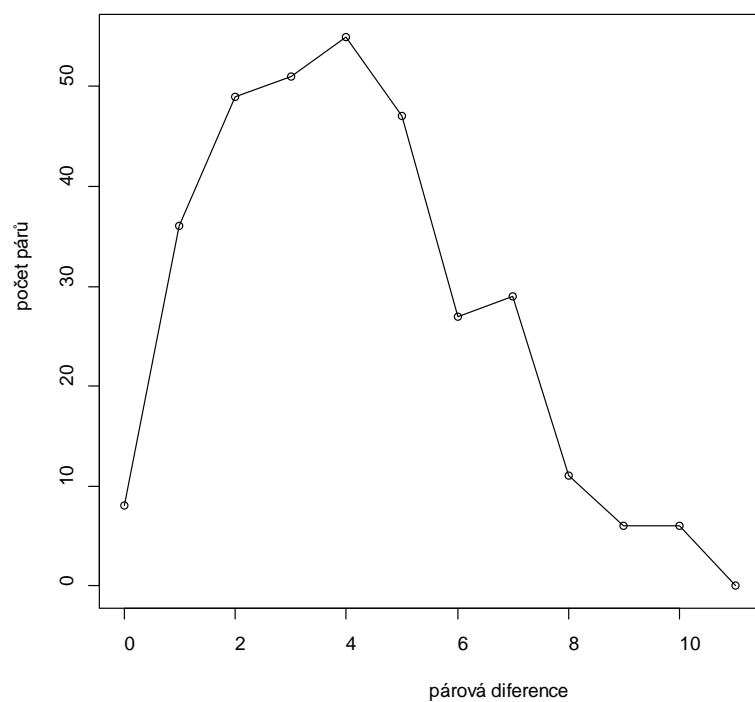
Analýza Mismatch Distribution - sti



Analýza Mismatch Distribution - zá



Analýza Mismatch Distribution - vý



4.2 Analýza mikrosatelitů

4.2.1 Vstupní data

Byl sestaven multiplex mikrosatelitových lokusů podle Tabulka 3.13. Celkem bylo analyzováno 524 vzorků z různých jedinců *M. religiosa*. Při úpravě v programu GeneMarker bylo zjištěno, že ve dvou lokusech je mnoho chybějících dat - zhruba 30 % v lokusu MR_13 a přibližně 43 % v lokusu MR_14. Z tohoto důvodu (a kvůli vysokému odhadu frekvence nulových alel – viz níže) byly tyto lokusy z dalších analýz vyřazeny. Pokud se dále u jednoho jedince nepodařilo získat data alespoň ze tří lokusů, byl takový jedinec z analýz rovněž vyřazen. Tímto způsobem se nakonec podařilo získat data pro 507 jedinců. Původní lokality (Tabulka 3.1) byly pro následné analýzy sloučeny do geograficky blízkých oblastí, viz Tabulka 4.9. Celkem se podařilo detekovat 1 252 alel v 57 oblastech, celkové počty zjištěných alel v jednotlivých oblastech jsou rovněž v Tabulka 4.9.

Protože byl též k dispozici dostatek vzorků tkání z jedinců příbuzných druhů (*Ameles* sp., *Hierodula* sp., *Iris* sp. a *Sphodromantis* sp.), bylo rovněž otestováno, zda lze zmíněný multiplex primerů použít i pro tyto druhy. Ukázalo se však, že primery nejsou pro jedince těchto druhů použitelné.

Tabulka 4.9 Přehled lokalit, z nichž se podařilo získat data pro mikrosatelitové analýzy

| Číslo populace | Stát | Lokalita | Počet jedinců | Počet alel |
|----------------|----------------|------------------|---------------|------------|
| 1 | Albania | Konispol | 1 | 39 |
| | | Krongji | 1 | |
| | | Vagalat | 6 | |
| | Greece | Analipsi | 1 | |
| | | Korfu | 3 | |
| 2 | Albania | Këlcyrë | 1 | 11 |
| | | Komarak | 1 | |
| 3 | Albania | Divjakë | 2 | 10 |
| 4 | Albania | Rabdisht | 4 | 22 |
| 5 | Austria | Baden bei Wien | 1 | 11 |
| | | Brunn am Gebirge | 1 | |
| 6 | Czech Republic | Havraníky | 8 | 33 |
| | | Ječmeniště | 1 | |
| | | Znojmo | 1 | |
| | Austria | Retz | 1 | |

| | | | | |
|----|----------------|-----------------------|----|----|
| 7 | Czech Republic | Brno | 22 | 78 |
| | | Bzenec | 2 | |
| | | Grygov | 1 | |
| | | Hodonín | 2 | |
| | | Horní Věstonice | 1 | |
| | | Hvozd | 1 | |
| | | Javorník | 1 | |
| | | Litovel | 1 | |
| | | Luhačovice | 1 | |
| | | Mutěnice | 1 | |
| | | Perna | 1 | |
| | | Pouzdřany | 14 | |
| | | Slatinky | 1 | |
| | | Švařec | 4 | |
| | | Tišnov | 5 | |
| | | Třebíč | 1 | |
| | | Velké Meziříčí | 4 | |
| 8 | Czech Republic | Hradec Králové | 1 | 36 |
| | | Krňovice | 1 | |
| | | Prerov nad Labem | 10 | |
| | | Žehuň | 37 | |
| 9 | Slovakia | Bzince pod Javorinou | 1 | 54 |
| | | Mikušovce | 12 | |
| | | Opatovce | 1 | |
| | | Trenčianske Jastrabie | 1 | |
| | | Trenčín | 2 | |
| | | Vršatské Podhradie | 2 | |
| 10 | Slovakia | Bratislava | 8 | 34 |
| | | Horný Čepěň | 1 | |
| | | Závod | 1 | |
| 11 | Hungary | Dorog | 3 | 41 |
| | | Győr | 1 | |
| | | Keszölc | 1 | |
| | Slovakia | Nová Stráž | 1 | |
| | | Virt | 5 | |
| 12 | Slovakia | Kosorín | 2 | 13 |
| 13 | Slovakia | Hajnáčka | 1 | 13 |
| | | Lučenec | 2 | |
| 14 | Slovakia | Lúčky | 1 | 56 |
| | Ukraine | Chabanivka | 30 | |
| | | Irshava | 1 | |
| | | Užhorod | 1 | |
| 15 | Hungary | Monok | 1 | 5 |
| 16 | Hungary | Bócsa | 1 | 35 |

| | | | | |
|----|----------|----------------------------|----|----|
| | | Dunatetétlen | 1 | |
| | | Kunpeszér | 6 | |
| | | Örkény | 1 | |
| 17 | Hungary | Zalaszentmihály | 1 | 6 |
| 18 | Hungary | Szeged | 1 | 8 |
| 19 | Germany | Roddahn | 12 | 23 |
| 20 | Poland | Opole | 2 | 8 |
| 21 | Poland | Cmolas | 4 | 16 |
| 22 | Romania | Horlești | 1 | 27 |
| | | Valea Lupului | 2 | |
| | | Negrești | 1 | |
| | Ukraine | Storozhynets | 2 | |
| 23 | Bulgaria | Jasna Poljana | 1 | 13 |
| | | Primorsko | 2 | |
| 24 | Romania | Ciuguzel | 3 | 47 |
| | | Comănești | 3 | |
| | | Râmpeț | 3 | |
| | | Vaidei | 6 | |
| 25 | Bulgaria | Damyantsa | 1 | 10 |
| | | Sugarevo | 1 | |
| 26 | Greece | Platamonas | 11 | 16 |
| 27 | Greece | Dichova | 1 | 10 |
| | | Karavas | 1 | |
| 28 | Turkey | Kuzdere | 1 | 6 |
| 29 | Croatia | Brač | 4 | 36 |
| | | Sumartin | 6 | |
| | | Tribunj | 1 | |
| 30 | Croatia | Ljubač | 1 | 15 |
| | | Rtina | 1 | |
| | | Stinica | 2 | |
| 31 | Croatia | Soboli | 1 | 4 |
| 32 | Italy | Montereale | 19 | 58 |
| | | Venzone | 12 | |
| 33 | Italy | Castiglione delle Stiviere | 3 | 11 |
| 34 | Italy | La Traggiara | 2 | 7 |
| 35 | Italy | Fondi | 3 | 29 |
| | | Cassino | 6 | |
| 36 | Italy | Torre del Lauro | 1 | 7 |
| 37 | Morocco | Tanger | 5 | 7 |
| 38 | France | Faugères | 11 | 27 |
| 39 | France | Gordes | 1 | 15 |
| | | Sainte-Eulalie | 3 | |
| 40 | France | La Rochegiron | 4 | 24 |
| | | Melve | 5 | |
| 41 | France | Quinçay | 10 | 15 |
| 42 | France | Rully | 10 | 18 |
| 43 | France | Jaillon | 2 | 6 |

| | | | | |
|----|----------|-----------------|----|----|
| 44 | France | Montenach | 2 | 7 |
| 45 | France | Blotzheim | 8 | 20 |
| 46 | Germany | Glottertal | 7 | 18 |
| | | Schelingen | 4 | |
| 47 | Spain | Béznar | 1 | 10 |
| | | Güejar Sierra | 1 | |
| 48 | Georgia | Kasristskali | 36 | 70 |
| 49 | Georgia | Kaspi | 15 | 51 |
| | | Mtskheta | 1 | |
| 50 | Ukraine | Cheremysivka | 4 | 37 |
| | | Vesele | 4 | |
| 51 | Ukraine | Radens'k | 1 | 5 |
| 52 | Ukraine | Antonivka | 5 | 29 |
| | | Myhiya | 1 | |
| | | Voznesens'k | 1 | |
| 53 | Ukraine | Kiev | 1 | 10 |
| | | Kovalyn | 1 | |
| 54 | Spain | El Grado | 1 | 9 |
| | | Noales | 1 | |
| | | Senterada | 1 | |
| 55 | Albania | Dardhe | 2 | 10 |
| 56 | Slovenia | Župančiči | 1 | 10 |
| | | Dragonja | 1 | |
| 57 | Italy | Santa Marinella | 1 | 6 |

Provedený test na genovou vazbu naznačuje, že zkoumané lokusy nejsou ve vazbě. Dále byl proveden odhad frekvence nulových alel přítomných v jednotlivých lokusech pro jednotlivé populace. V řadě populací přesahoval odhad frekvence nulových alel hodnotu 0,2. Nejnižší hodnoty vyšly pro lokusy MR_01 a MR_08, vyšší hodnoty pak pro lokusy MR_09 a MR_12 a nejvyšší pak pro zbylé lokusy MR_13 a MR_44. Jak bylo zmíněno výše, byly poslední dva jmenované lokusy vyřazeny a další analýzy byly provedeny jen pro zbylé čtyři lokusy. Ke zjištění, zda jsou nulové alely v jednotlivých populacích rozloženy rovnoměrně, bylo provedeno porovnání globálních hodnot F_{ST} v případě použití ENA korekce na nulové alely (implementována v programu FreeNA) a bez použití této korekce. Při ENA korekci bylo celkové $F_{ST} = 0,108019$, bez použití ENA korekce pak bylo celkové $F_{ST} = 0,110579$. Dále byly pro obě varianty analyzovány distanční matice párových hodnot F_{ST} . Mantelův test prokázal korelaci ($R^2 = 0,97$, p hodnota = 0,0001) mezi těmito maticemi.

4.2.2 Základní populační charakteristiky

Pro další analýzy byly vybrány populace, z nichž bylo k dispozici alespoň 10 vzorků. Pro tyto populace byla vypočtena odchylka od Hardy-Weinbergovy (HW) rovnováhy, očekávané a pozorované heterozygotnosti a počty privátních alel. Pro označení populací je dále použita lokalita s nejvyšším počtem vzorků. Na lokalitě 8 Czech Republic Přerov nad Labem je signifikantní odchylka od HW rovnováhy ve všech lokusech. U lokusu MR_01 není v žádné jiné populaci odchylka od HW rovnováhy patrná, u ostatních lokusů se odchylka vyskytuje ve více populacích. Privátní alely (tj. alely jedinečné pro jedince z dané lokality) se vyskytují poměrně vzácně, jejich počet se v jednotlivých populacích pohyboval od nuly do téměř 7 % (nejvíce na lokalitách 32 Italy Venzona 6,9 % a 24 Romania Vaidei – 6,4 %). Očekávaná heterozygotnost se pohybovala od nuly (lokus MR_12 na lokalitě 26 Greece Platamonas) do 0,9684 (lokus MR_08 na lokalitě 29 Croatia Sumartin). Všechny výsledky jsou uvedeny v Tabulka 4.10.

Tabulka 4.10 Populační charakteristiky podle jednotlivých lokusů; uvedena je jen lokalita s největším počtem vzorků, všechny lokality dané populace jsou v tabulce 4.9; n: počet jedinců (pokud se u některého jedince nepodařilo v daném lokusu získat data je $n < 10$), k: počet detekovaných alel v daném lokusu; HW rovnováha: p hodnota výsledku testu odchylky od Hardy-Weinbergovy rovnováhy; H_o : pozorovaná heterozygotnost; H_e : očekávaná heterozygotnost

| Číslo populace, lokalita - Lokus | n | k | HW rovnováha | Privátní alely | H_o | H_e |
|----------------------------------|----|----|--------------|----------------|--------|--------|
| 10 Slovakia Bratislava | | | | | | |
| MR_01 | 10 | 7 | 0,4381 | 0 | 0,8000 | 0,8789 |
| MR_08 | 10 | 11 | 0,5458 | 0 | 0,8000 | 0,8737 |
| MR_12 | 9 | 7 | 0,7307 | 0 | 0,8889 | 0,8693 |
| MR_09 | 10 | 9 | 0,0007 | 0 | 0,5000 | 0,8947 |
| 6 Czech Republic Havraníky | | | | | | |
| MR_01 | 11 | 8 | 0,8958 | 0 | 0,8182 | 0,8139 |
| MR_08 | 11 | 5 | 0,1486 | 0 | 0,7273 | 0,7013 |
| MR_12 | 11 | 9 | 0,8316 | 1 | 0,8182 | 0,8874 |
| MR_09 | 11 | 11 | 0,0000 | 0 | 0,5455 | 0,8831 |
| 7 Czech Republic Brno | | | | | | |
| MR_01 | 63 | 12 | 0,2011 | 1 | 0,8254 | 0,8481 |
| MR_08 | 63 | 26 | 0,0000 | 1 | 0,9206 | 0,9437 |
| MR_12 | 63 | 16 | 0,0000 | 0 | 0,6190 | 0,8985 |
| MR_09 | 63 | 24 | 0,0000 | 0 | 0,6032 | 0,8913 |
| 29 Croatia Sumartin | | | | | | |
| MR_01 | 11 | 6 | 0,0977 | 0 | 0,8182 | 0,8139 |
| MR_08 | 10 | 14 | 0,0483 | 1 | 0,8000 | 0,9684 |
| MR_12 | 9 | 5 | 0,0037 | 0 | 0,3333 | 0,8105 |
| MR_09 | 11 | 11 | 0,0000 | 0 | 0,2727 | 0,9394 |

| | | | | | | |
|-----------------------------------|----|----|--------|---|--------|--------|
| 8 Czech Republic Přerov nad Labem | | | | | | |
| MR_01 | 49 | 11 | 0,0000 | 0 | 0,7551 | 0,8536 |
| MR_08 | 49 | 9 | 0,0000 | 1 | 0,7347 | 0,7789 |
| MR_12 | 30 | 7 | 0,0000 | 0 | 0,2000 | 0,6356 |
| MR_09 | 49 | 9 | 0,0000 | 0 | 0,5306 | 0,8018 |
| 26 Greece Platamonas | | | | | | |
| MR_01 | 11 | 6 | 0,1063 | 0 | 1,0000 | 0,8312 |
| MR_08 | 11 | 4 | 0,3646 | 0 | 0,9091 | 0,7229 |
| MR_12 | 8 | 1 | NA | 0 | 0,0000 | 0,0000 |
| MR_09 | 11 | 5 | 0,0378 | 0 | 0,4545 | 0,7576 |
| 24 Romania Vaidei | | | | | | |
| MR_01 | 15 | 9 | 0,5384 | 0 | 1,0000 | 0,8713 |
| MR_08 | 15 | 13 | 0,5396 | 1 | 0,8667 | 0,8805 |
| MR_12 | 15 | 11 | 0,0000 | 2 | 0,2667 | 0,8782 |
| MR_09 | 15 | 14 | 0,0000 | 0 | 0,5333 | 0,9103 |
| 11 Slovakia Virt | | | | | | |
| MR_01 | 11 | 10 | 0,9705 | 0 | 1,0000 | 0,8918 |
| MR_08 | 11 | 8 | 0,2557 | 0 | 0,7273 | 0,7792 |
| MR_12 | 11 | 12 | 0,6752 | 0 | 0,9091 | 0,9351 |
| MR_09 | 11 | 11 | 0,0004 | 0 | 0,5455 | 0,9307 |
| 14 Ukraine Chabanivka | | | | | | |
| MR_01 | 33 | 9 | 0,4056 | 0 | 0,8182 | 0,8373 |
| MR_08 | 33 | 18 | 0,2893 | 0 | 0,8788 | 0,9124 |
| MR_12 | 33 | 12 | 0,0000 | 1 | 0,5758 | 0,8783 |
| MR_09 | 33 | 17 | 0,0000 | 0 | 0,6667 | 0,9170 |
| 9 Slovakia Mikušovce | | | | | | |
| MR_01 | 19 | 11 | 0,3622 | 0 | 0,7895 | 0,8777 |
| MR_08 | 19 | 14 | 0,4235 | 0 | 0,8947 | 0,8976 |
| MR_12 | 13 | 11 | 0,0000 | 1 | 0,3846 | 0,8954 |
| MR_09 | 18 | 18 | 0,0000 | 0 | 0,5000 | 0,9444 |
| 32 Italy Venzona | | | | | | |
| MR_01 | 31 | 9 | 0,4196 | 0 | 0,7742 | 0,8530 |
| MR_08 | 26 | 19 | 0,0000 | 1 | 0,3846 | 0,9404 |
| MR_12 | 24 | 9 | 0,0000 | 3 | 0,3750 | 0,7473 |
| MR_09 | 31 | 21 | 0,0000 | 0 | 0,1290 | 0,9508 |
| 1 Albania Vagalat | | | | | | |
| MR_01 | 12 | 10 | 0,2004 | 0 | 0,9167 | 0,8949 |
| MR_08 | 12 | 9 | 0,0483 | 0 | 0,5833 | 0,7428 |
| MR_12 | 12 | 8 | 0,0978 | 0 | 0,5833 | 0,8587 |
| MR_09 | 12 | 12 | 0,0000 | 0 | 0,4167 | 0,9493 |
| 48 Georgia Kasristskali | | | | | | |
| MR_01 | 35 | 8 | 0,2089 | 0 | 0,5143 | 0,5333 |
| MR_08 | 36 | 21 | 0,6664 | 0 | 0,9167 | 0,9264 |
| MR_12 | 35 | 15 | 0,0000 | 0 | 0,7143 | 0,9035 |
| MR_09 | 36 | 26 | 0,0000 | 2 | 0,8056 | 0,9319 |
| 49 Georgia Kaspi | | | | | | |
| MR_01 | 16 | 6 | 1,0000 | 0 | 0,5625 | 0,4798 |

| | | | | | | |
|-----------------------|----|----|--------|---|--------|--------|
| MR_08 | 16 | 15 | 0,8546 | 0 | 0,9375 | 0,9435 |
| MR_12 | 15 | 11 | 0,0156 | 0 | 0,7333 | 0,9126 |
| MR_09 | 16 | 19 | 0,8561 | 2 | 1,0000 | 0,9456 |
| 19 Germany Roddahn | | | | | | |
| MR_01 | 12 | 5 | 0,118 | 0 | 0,5833 | 0,7500 |
| MR_08 | 12 | 6 | 0,6364 | 0 | 0,9167 | 0,8116 |
| MR_12 | 12 | 6 | 0,0247 | 0 | 0,5833 | 0,7899 |
| MR_09 | 12 | 6 | 0,2851 | 0 | 0,5833 | 0,8659 |
| 38 France Faugères | | | | | | |
| MR_01 | 11 | 2 | 1,0000 | 0 | 0,3636 | 0,4156 |
| MR_08 | 11 | 11 | 0,0001 | 0 | 0,6364 | 0,9307 |
| MR_12 | 6 | 4 | 0,0014 | 0 | 0,0000 | 0,7273 |
| MR_09 | 11 | 10 | 0,0000 | 0 | 0,3636 | 0,9004 |
| 42 France Rully | | | | | | |
| MR_01 | 10 | 2 | 1,0000 | 0 | 0,2000 | 0,1895 |
| MR_08 | 8 | 8 | 0,0000 | 0 | 0,2500 | 0,9000 |
| MR_12 | 6 | 2 | NA | 0 | 0,1667 | 0,1667 |
| MR_09 | 10 | 6 | 0,0000 | 0 | 0,3000 | 0,8263 |
| 46 Germany Glottertal | | | | | | |
| MR_01 | 11 | 2 | 1,0000 | 0 | 0,4545 | 0,4545 |
| MR_08 | 10 | 7 | 0,0025 | 0 | 0,4000 | 0,8000 |
| MR_12 | 4 | 4 | 0,0095 | 0 | 0,0000 | 0,8571 |
| MR_09 | 10 | 5 | 0,0000 | 0 | 0,1000 | 0,7632 |
| 41 France Quinçay | | | | | | |
| MR_01 | 10 | 2 | 0,5635 | 0 | 0,4000 | 0,5263 |
| MR_08 | 9 | 4 | 0,0001 | 0 | 0,0000 | 0,6536 |
| MR_12 | 9 | 4 | 0,0001 | 0 | 0,1111 | 0,7778 |
| MR_09 | 9 | 5 | 0,0027 | 0 | 0,2222 | 0,7124 |

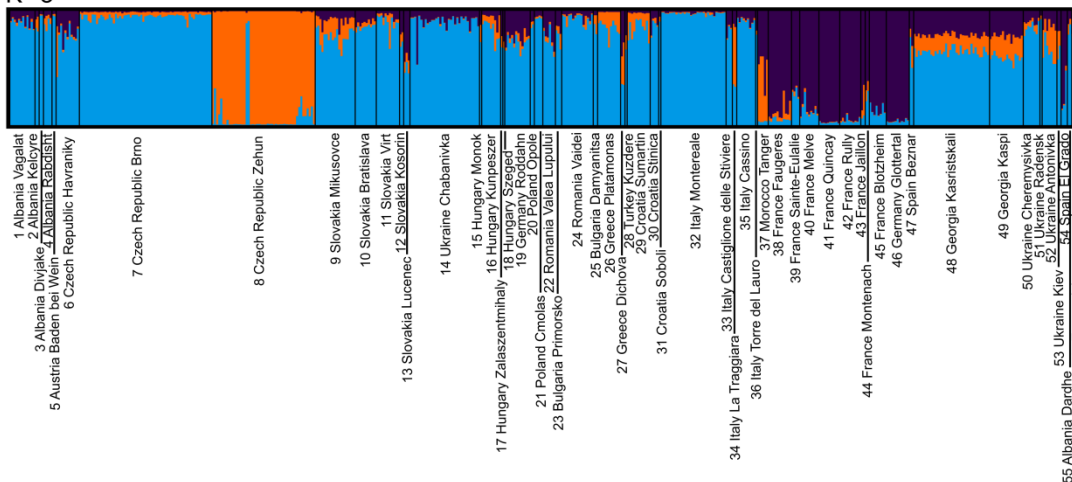
4.2.3 Analýza Structure

Prvotní analýza v programu Structure byla spuštěna pro počet skupin $K = 3-10$. Statisticky největší podporu mělo rozdělení do skupin pro $K = 2-7$. Finální analýza v programu Structure tedy byla provedena pro tento rozsah počtu skupin. Statisticky největší podporu mělo $K = 4$.

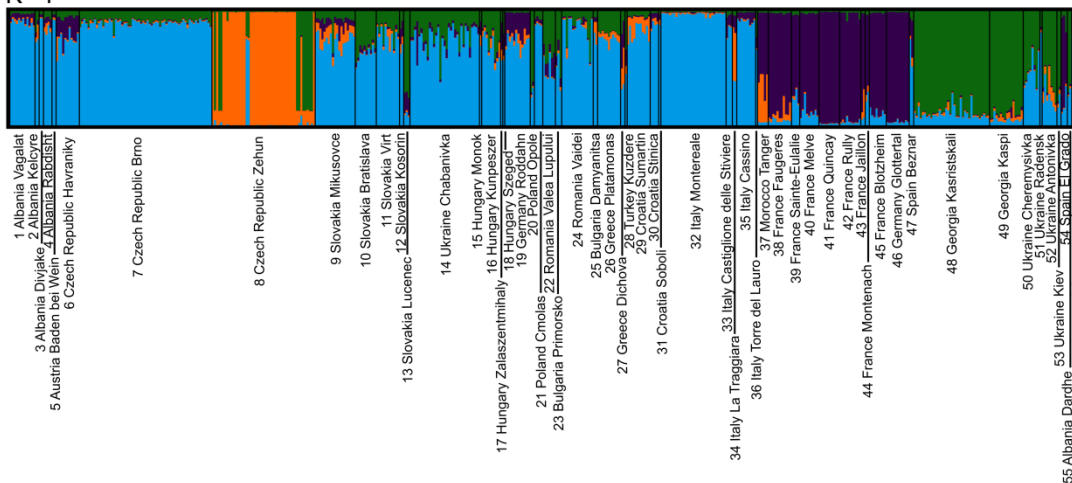
Výsledky analýzy mikrosatelitových dat pomocí programu Structure jsou pro $K = 3-5$ uvedeny na následujícím Obr 4.5. Z obrázku je patrné, že jednu skupinu tvoří vzorky z Gruzie a některých ukrajinských, slovenských a polských lokalit. Druhou skupinou jsou vzorky z Německa, Francie a Španělska. Třetí (nejvíce zastoupenou) je skupina vzorků ze střední Evropy, Itálie a balkánského poloostrova. Čtvrtá skupina je pak výhradně tvořena vzorky z jediné lokality 8 Czech Republic Žehuň. Další zvýšení K ($K=5$) pak vedlo k oddělení vzorků ze severní Itálie, Řecka a některých lokalit v Albánii.

Obrázek 4.5 Výsledek analýzy Structure, jsou uvedeny výsledky analýzy pro K=3–5; uvedena je jen lokalita s největším počtem vzorků, všechny lokality dané populace jsou v tabulce 4.9

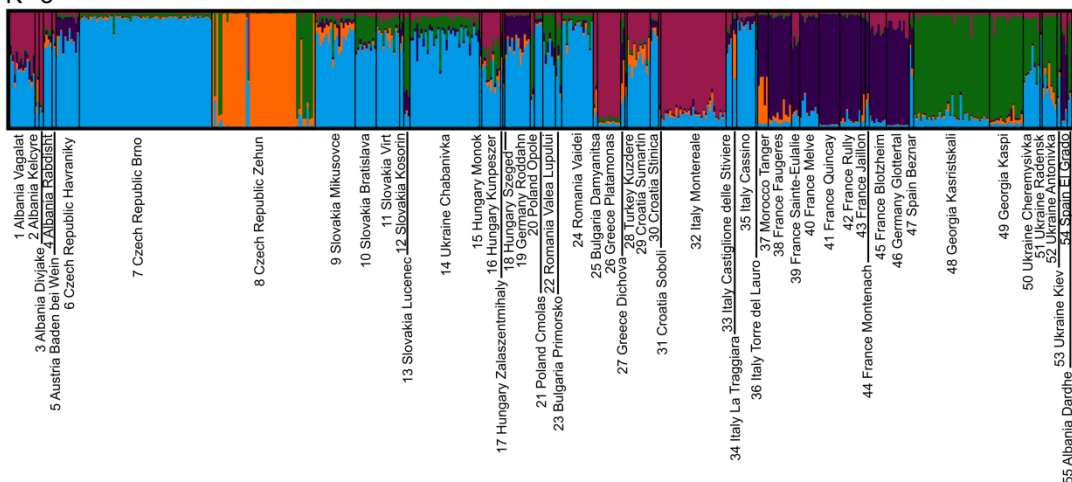
K=3



K=4



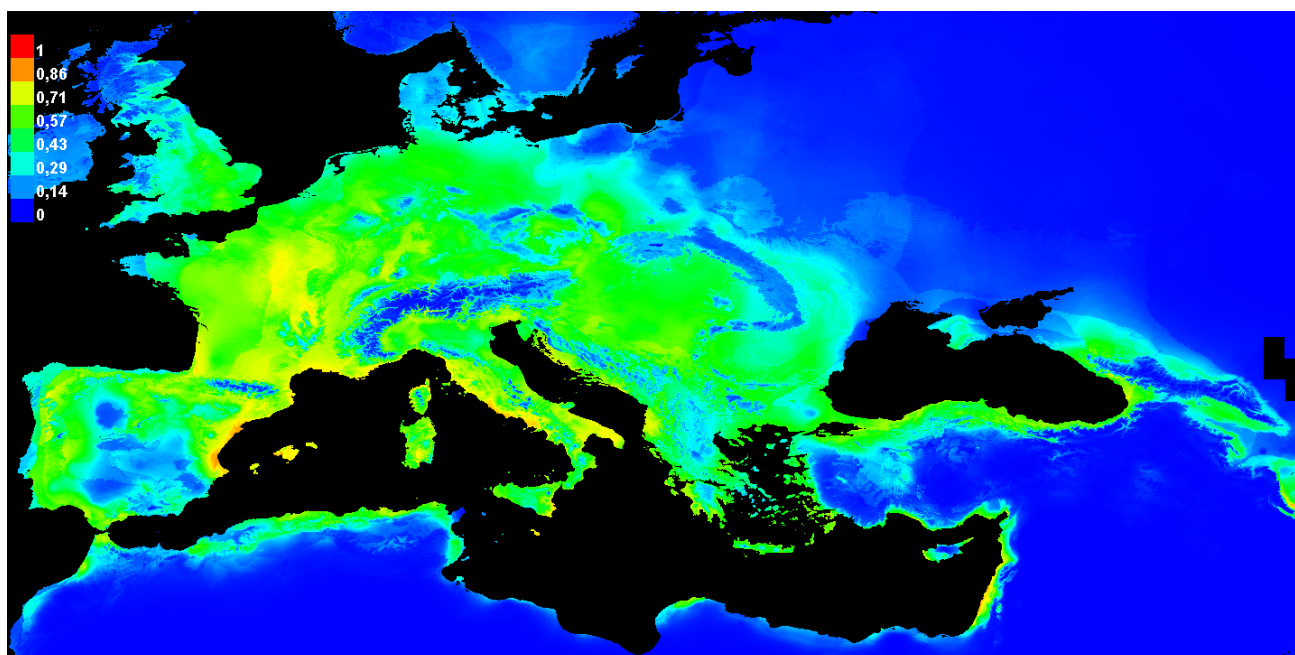
K=5



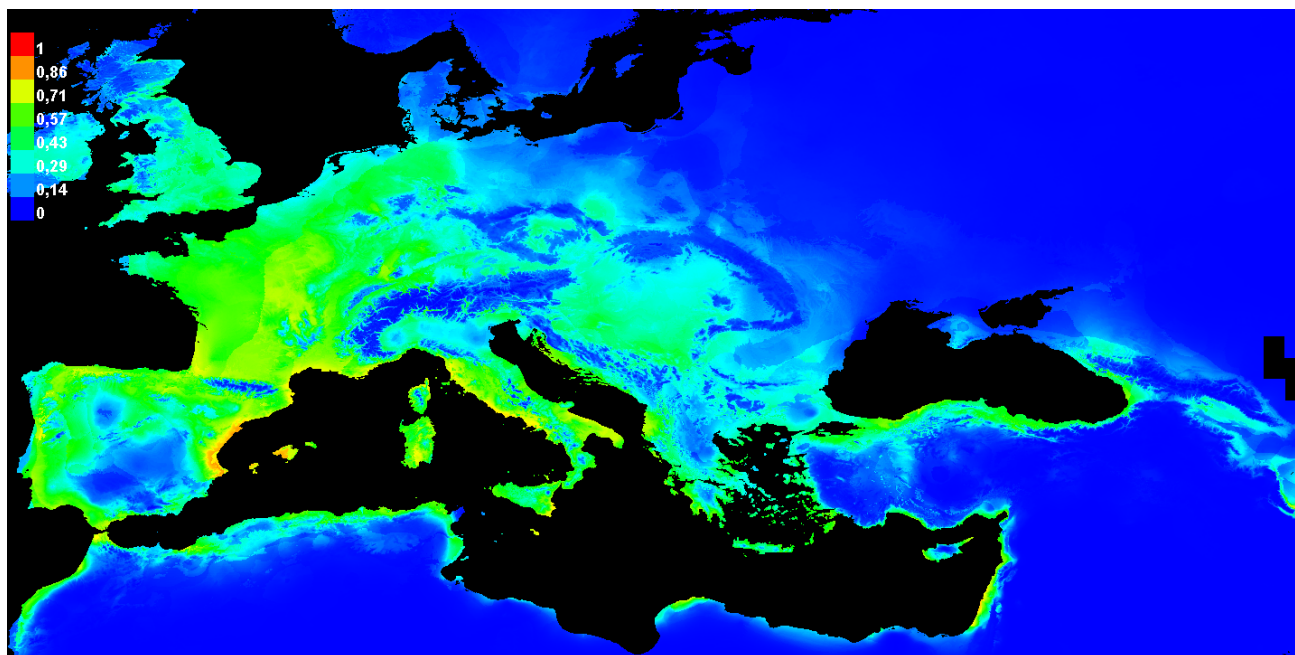
4.3 Modelování rozšíření

Pro modelování rozšíření *M. religiosa* byl použit program Maxent. Na základě testu korelace klimatických proměnných, byly k výpočtu použity následující klimatické proměnné z databáze WorldClim: průměrná roční teplota (BIO1), průměrné rozmezí denních teplot (BIO2), isothermalita (BIO3), teplotní sezonalita (BIO4), průměrná teplota nejvlhčího čtvrtletí (BIO8), roční srážky (BIO12), srážková sezonalita (BIO15). Při výpočtu modelu dnešního rozšíření bylo dosaženo hodnot AUC 0,8836 (trénovací) a 0,8450 (testovací). Model je v souladu se známým rozšířením tohoto druhu, avšak neoznačuje oblast ve Španělsku a poměrně velké území na Ukrajině. Výsledky získané pro střední holocén se v základních rysech shodují pro oba klimatické modely, jediná výraznější odlišnost je v oblasti střední Evropy, kde model MIROC-ESM předpokládá lepší klimatické podmínky pro přežití kudlanek. Modely pro poslední glaciální maximum se také v zásadě shodují, klimaticky vhodné oblasti umísťují na pobřeží Středozemního a Černého moře a na středomořské ostrovy. V tomto případě však naopak model MIROC-ESM označuje klimaticky vhodnou oblast užší než model CCSM4. Všechny získané výsledky (průměr z deseti provedených výpočtů) jsou na následujících stranách.

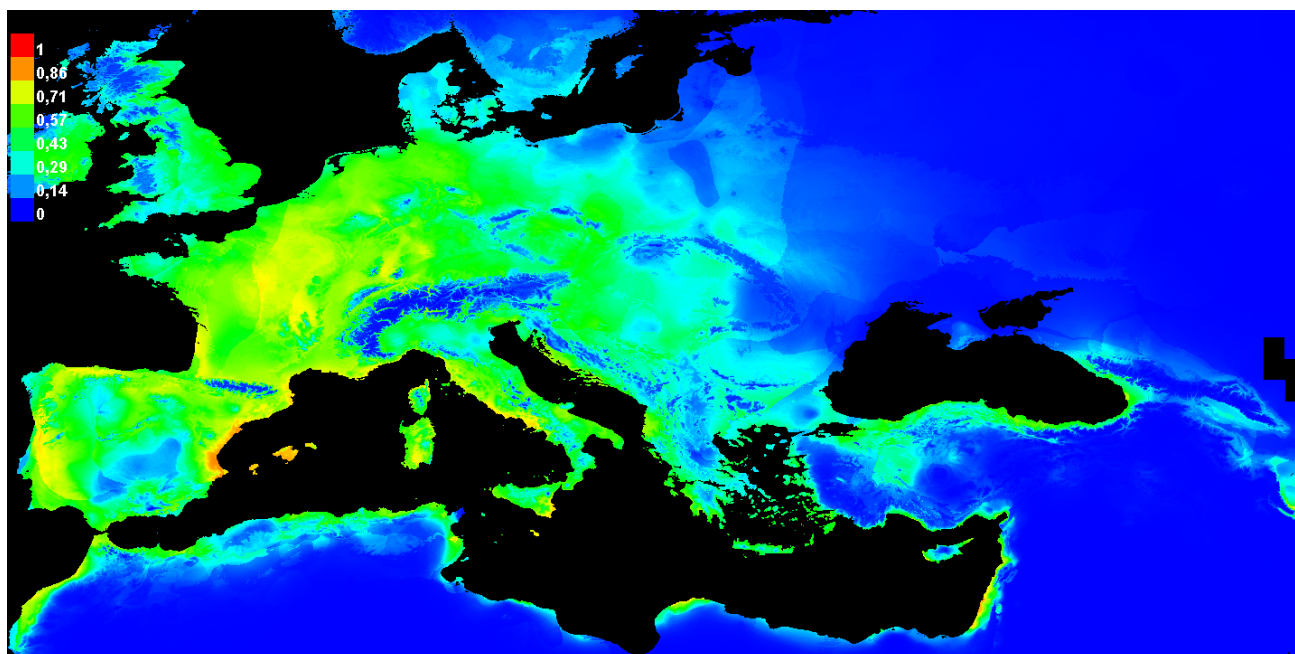
Obrázek 4.6 Model současného rozšíření *Mantis religiosa* na základě odhadu klimaticky vhodných lokalit



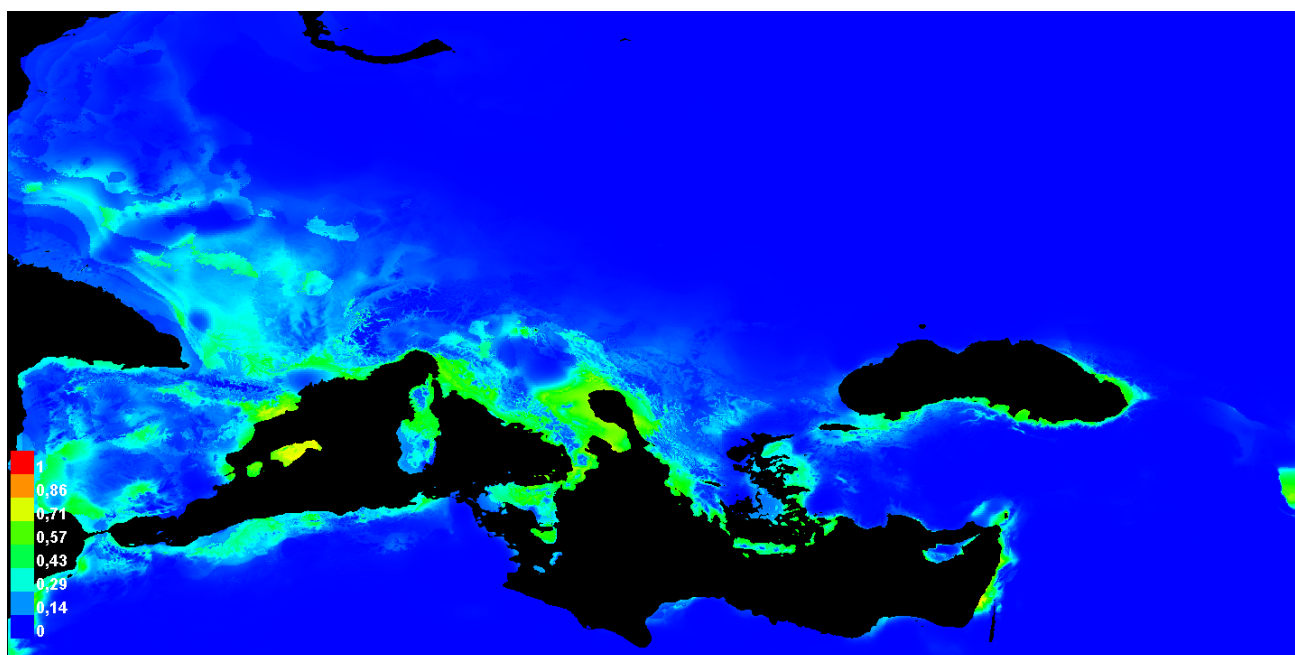
Obrázek 4.7 CCSM4 model rozšíření *Mantis religiosa* ve středním holocénu na základě odhadu klimaticky vhodných lokalit



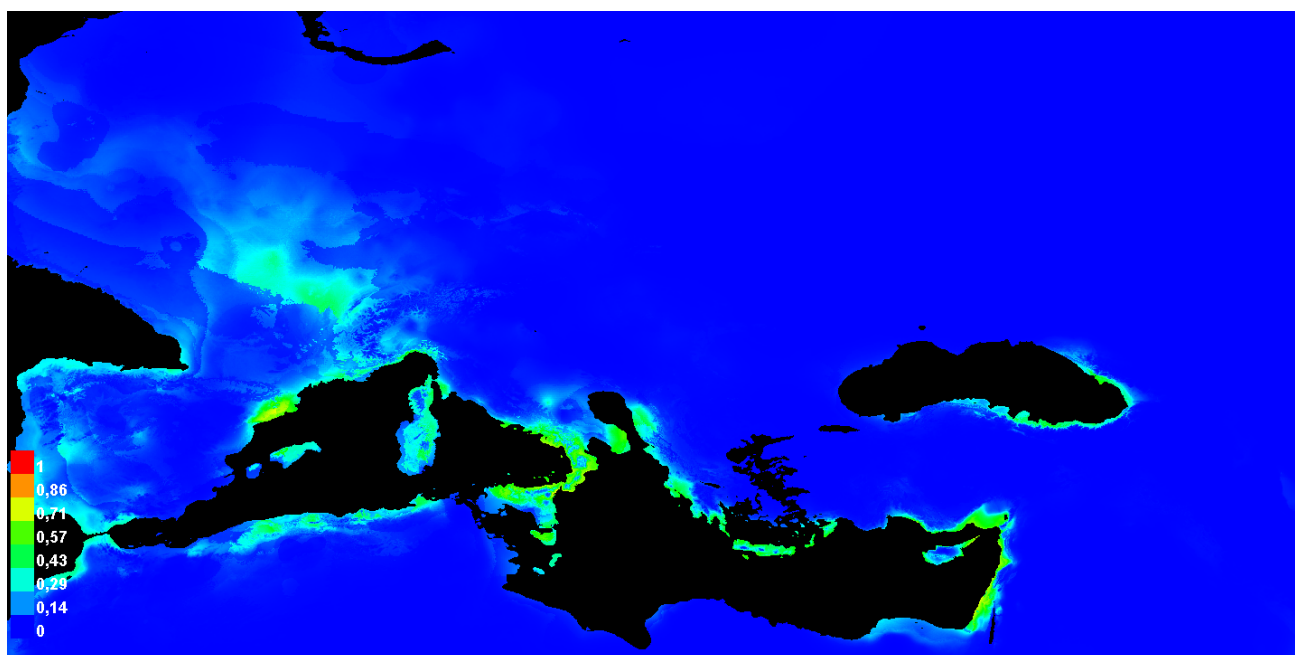
Obrázek 4.8 MIROC-ESM model rozšíření *Mantis religiosa* ve středním holocénu na základě odhadu klimaticky vhodných lokalit



Obrázek 4.9 CCSM4 model rozšíření *Mantis religiosa* v době posledního glaciálního maxima na základě odhadu klimaticky vhodných lokalit



Obrázek 4.10 MIROC-ESM model rozšíření *Mantis religiosa* v době posledního glaciálního maxima na základě odhadu klimaticky vhodných lokalit



5 Diskuze

5.1 Mitochondriální geny

Pro zjištění genetické příbuznosti kudlanky nábožné (*M. religiosa*) v oblasti Evropy a přilehlých území byly použity tři mitochondriální markery. Jednalo se o úseky genů kódujících cytochrom oxidázu I (COI), cytochrom oxidázu II (COII) a cytochrom b (Cyt b). Jejich výběr byl převzat z diplomové práce Mgr. Hany Parčové (Urbánková 2012). V této práci autorka úspěšně amplifikovala zmíněné genové úseky u přibližně sta jedinců *M. religiosa*. Tyto markery jsou ve výzkumu fylogeografie hmyzu velmi často používané – COI např. Dick et al. (2004); Emerson et al. (2000); Mousson et al. (2005); Sproul et al. (2014), COII např. Emerson et al. (2000); Stevens et al. (2007), Cyt b např. Mousson et al. (2005); Sezonlin et al. (2006); Sproul et al. (2014). U druhu *M. religiosa* pak byla zmíněná trojice genů úspěšně použita rovněž ve studii Linn a Griebeler (2015). Autorky v této studii navíc použily mitochondriální gen ND4. V této diplomové práci však nebyl použit, protože statistické podpory výsledných stromů již byly uspokojivé. Jako outgroups byly použity vzorky příbuzných druhů, které se v Evropě běžně vyskytují. Ostatní druhy rodu *Mantis* se naopak v Evropě nevyskytují a získání jejich vzorků pro analýzy je velmi obtížné.

5.1.1 Fylogenetické analýzy

Pro zjištění příbuznosti jedinců *M. religiosa* byly vybrány dvě metody konstrukce fylogenetických stromů – Maximum Likelihood a Bayesovská metoda. Analýzy jednotlivých genů nevykazovaly dostatečně vysokou statistickou podporu v rámci získaných topologií, a proto se v této práci zabývám zejména analýzou vycházející z konkatenátu všech tří genů. Obě metody konstrukce ukazují odlišnou topologii. Jednotlivé populace vycházejí ve stromech na odlišných pozicích. Shodují se však v topologii rozdělení do tří statisticky podpořených linií a jedné sublinie kudlanek v rámci studované oblasti. Vysoká podpora (>70) vychází v analýze Maximum Likelihood pro linii východoevropskou a středoevropskou. U Bayesovské analýzy jsou pak vysoce (>95) podpořeny všechny hlavní linie. Zmíněné podpory jsou obvykle uvažovány za vysoké (Farache et al. 2013). Východoevropská linie zahrnuje vzorky z Gruzie, Ukrajiny a rovněž jednotlivé vzorky z Rumunska, Bulharska a Maďarska.

Protože ve východní části areálu nejsou výraznější geografické bariéry (pohoří), zdá se, že se tato linie dostává až do oblasti střední Evropy. Zde se, pravděpodobně v oblasti karpatského oblouku, stýká s linií středoevropskou. Druhou linií je linie západoevropská, již tvoří jedinci ze západní Evropy (Francie, Německo, Španělsko) a severní Afriky. Tato linie je pravděpodobně v oblasti údolí Rýna v kontaktu se třetí linií, tzv. středoevropskou (respektive jednou její sublinií, viz níže). Středoevropská linie zahrnuje vzorky ze střední Evropy, balkánského a Apeninského poloostrova a vzorek z Turecka. Ačkoliv bylo v této linii k dispozici nejvíce jedinců, nízké podpory ve fylogenetických stromech neumožňují zhodnotit rozdělení do dalších sublinií. Výjimkou je pouze v obou stromech dobře podpořený klastér jedinců, kteří pocházejí z oblasti jihozápadního Německa a několika francouzských lokalit. Tato sublinie se rovněž objevuje v práci Linn a Griebeler (2015). Zajímavým výsledkem je rovněž fakt, že žádná z metod neodděluje vzorky z apeninského poloostrova do samostatné linie. Je však třeba zdůraznit, že z potenciálně zajímavé jižní Itálie nebyl k dispozici žádný vzorek, podařilo se získat pouze jednoho jedince ze Sicílie. Přitom právě v oblasti jižní Itálie (Vega et al. 2010) a Sicílie (Santucci et al. 1998) se vyskytují u různých druhů linie geneticky oddělené od zbytku Itálie.

5.1.2 Haplotypová diverzita

Haplotypová a nukleotidová diverzita byla použita jako měřítko genetické diverzity populací ve zkoumané oblasti. Z výsledků je patrná nižší genetická diverzita v severněji položených oblastech. K vizualizaci a odhadu průběhu haplotypové diverzity mimo zkoumané lokality byla použita interpolační metoda v programu ArcGIS, podobný přístup zvolili např. autoři Vilaça et al. (2014). Z výsledného modelu je patrný severojižní gradient v průběhu haplotypové diverzity. Model lze obtížněji interpretovat v oblastech, z nichž není k dispozici dostatečný počet lokalit. Zejména jde o východní část areálu, kde je takto pravděpodobně nadhodnocena haplotypová diverzita na relativně velkém území. Podobný efekt lze předpokládat i v oblasti Pyrenejského poloostrova a jižní Itálie. Naopak pro oblasti střední Evropy, Německa, jihozápadní Francie, severní Itálie a pobřeží Jaderského moře, odkud je k dispozici více vzorků, je model pravděpodobně přesnější. Patrná je zejména nízká haplotypová diverzita u východoněmeckých lokalit kudlanek, což je ve shodě s výsledky práce Linn a Griebeler (2015), proto lze u těchto populací předpokládat jejich recentní vznik.

Naopak je patrná relativně vyšší diverzita v jihozápadní části Německa a ve východní Francii. Nízké hodnoty jsou dále patrné rovněž v polské lokalitě Cmolas, která by tedy rovněž mohla být nově založená. Nízká diverzita řecké populace Platamonas je způsobena tím, že zkoumaní jedinci pocházejí z jedné oothéky. Existence vyšší haplotypové diverzity v jižních částech areálu je spojována s existencí glaciálních refugií (Vilaça et al. 2014).

Po rozdělení sekvencí do haplotypů byla provedena konstrukce haplotypové sítě na základě metody maximální parsimonie. Celkem se podařilo detekovat 159 haplotypů. Výsledná topologie naznačuje opět rozdělení do tří skupin – haplotypy východoevropské, středoevropské a západoevropské.

5.1.3 Populační struktura

Prostorová analýza molekulární variance (SAMOVA) byla provedena ke zjištění, které populace jsou geneticky podobné a geograficky blízké. Pro provedení této analýzy byli jedinci rozřazeni do populací podle jednoduchého kritéria (použitého rovněž v práci Linn a Griebeler (2015)) – vzdálenost míst nálezů v terénu nižší než 50 km. Vzhledem k předpokládaným schopnostem šíření jedinců kudlanky se taková vzdálenost jeví jako optimální. Výsledky jsou ve shodě se studií jmenované práce, podle které se populace rozděluje do tří skupin.

Výsledky Tajima's D testu jsou signifikantní pouze v linii východní a středoevropské, pro které jsou výsledky negativní. Signifikantně negativní výsledky Fu's F_s testu, a unimodální rozdělení v testu Mismatch Distribution jsou ve shodě s výsledky Linn a Griebeler (2015). Citovaná práce, však v tomto testu nezahrnovala jedince z východní Evropy, tato diplomová práce tedy navíc potvrzuje podobné výsledky i pro kudlanky z východní Evropy. Na základě těchto výsledků se tedy lze domnívat, že u všech linií kudlanek v současné době probíhá demografická expanze (Rogers a Harpending 1992)

5.2 Mikrosatelity

Pro ověření výsledků získaných použitím mitochondriální DNA byla provedena rovněž analýza mikrosatelitů, ty jsou kódovány jadernou DNA a představují tedy na mtDNA nezávislý zdroj dat. Kvůli odlišnému typu dědičnosti se ve fylogeografických studiích se často objevují rozpory ve výsledcích získaných pro mtDNA a mikrosatelity (Godinho et al. 2008; Zink a Barrowclough 2008). V rámci hmyzu se pro fylogeografické studie mikrosatelity hojně používají a často je jejich analýza kombinována právě s mtDNA, např. Drag et al. (2015); Theissinger et al. (2013). Pro druh *M. religiosa* nebyly dosud publikovány funkční mikrosatelitové primery, v literatuře jsou popsány markery pouze pro australskou kudlanku druhu *Ciulfina rentzi* (Attard et al. 2009). Funkčnost primerů pro *C. rentzi* na druhu *M. religiosa* nebyla zpětně testována. V rámci této diplomové práce byla provedena „cross-amplifikace“ s jinými, více příbuznými druhy než je *C. rentzi* a pro všechny se primery pro *M. religiosa* ukázaly jako nefunkční.

5.2.1 Populační charakteristiky

Už při vyhodnocování výsledků fragmentační analýzy bylo zjištěno, že pro velké množství jedinců se nepodařilo získat spolehlivá data ve dvou lokusech (MR_13 a MR_44). Tyto lokusy byly proto z dalších analýz vyřazeny, aby nepříznivě neovlivňovaly výsledky. Výsledky testu provedeného k odhadu nulových alel ukázaly, že v řadě populací je frekvence nulových alel relativně vysoká. To by mohlo negativně ovlivňovat výsledky dalších analýz (Dakin a Avise 2004). Proto byl proveden test (podle Theissinger et al. (2013)), kterým bylo zjištěno, že jednotlivé populace jsou výskytem nulových alel ovlivněny podobně. Z tohoto důvodu byl k dalším analýzám použit kompletní dataset bez vyloučení lokusů s vysokým odhadem frekvence nulových alel. Hardy-Weinbergova rovnováha, privátní alely, očekávaná a pozorovaná heterozygotnost byla určena pro populace, z nichž bylo k dispozici alespoň 10 vzorků. Pouze v lokusu MR_01 nebyla signifikantní odchylka od HW rovnováhy, ostatní lokusy vykazovaly v různých populacích častěji nerovnováhu. Odchylka od HW však ve většině studií není důvodem pro vyřazení lokusu z analýz, může být způsobena např. tzv. Wahlundovým efektem nebo chybou amplifikace v daném lokusu (Selkoe a Toonen 2006).

5.2.2 Analýza Structure

Pro analýzu v programu Structure byl zahrnut kompletní dataset 507 jedinců v 57 populacích. Nejvyšší podporu mělo rozdělení jedinců do čtyř skupin. Výsledky potvrzují závěry získané analýzou mtDNA. Především je dobře patrné oddělení jedinců z východní části areálu do samostatné skupiny. Dále lze odlišit vzorky ze západní Evropy a středoevropskou skupinu. Na druhou stranu z výsledků není patrné oddělení jedinců spadajících v analýzách mtDNA do středoevropské západní sublinie. To by mohlo být způsobeno tím, že na úrovni jaderné DNA už došlo ke smazání rozdílů opětovným křížením jedinců z obou linií. Zajímavé je rovněž oddělení jedinců z lokality v Žehuňské oboře do samostatné skupiny, což naznačuje, že tato populace mohla být založena jednou partenogenetickou samicí.

5.3 Modelování rozšíření

Pro modelování současného i historického rozšíření kudlanky nábožné byl vybrán program Maxent. V současné době se jedná o velmi populární software k odhadu možného rozšíření různých druhů živočichů (viz např. Rebelo et al. (2012); Vilaça et al. (2014)). Získaný model pro kudlanku nábožnou má vysokou vypovídací hodnotu, hodnoty AUC jsou vyšší než 0,8. To je ve většině podobných článků (Vilaça et al. 2014) považováno za dostatečně vysoké hodnoty. Modelování dnešního výskytu je ve shodě s dnes známým rozšířením *M. religiosa*. Není však jasné, proč model nepředpokládá klimaticky vhodné lokality na části území Španělska a na relativně velké oblasti Ukrajiny, odkud jsou kudlanky známy. Přitom však byly do modelu zahrnuty i lokality právě z Ukrajiny, tedy alespoň v případě této oblasti se nezdá být příčinou nedostatek vstupních dat. Dále je patrné, že nevhodné klimatické proměnné panují v horských oblastech Alp, Karpatského oblouku a hor v České republice a rovněž horských oblastí na balkánském poloostrově. Severní hranice v Evropě podle modelu probíhá oblastmi severní Francie, severního Německa a Polskem. To je opět ve shodě s dosud známými nejseverněji zaznamenanými populacemi (Liana 2007; Linn a Griebeler 2015). Ačkoliv bylo několik kudlanek nábožných zaznamenáno i v Lotyšsku (Pupiņš et al. 2012), model ukazuje, že v této oblasti nejsou pro kudlanku vhodné

podmínky a pravděpodobně zde tedy není dlouhodobě žádná populace schopna přežití. To potvrzují i autoři v citované práci.

Dalším modelem byla předpověď pro výskyt kudlanky nábožné během středního holocénu v době 6000 let před dneškem. Toto období (tzv. holocenní optimum) je charakterizováno v oblasti Evropy vysokým průběhem teploty (Aspöck 2008). V oblasti západní Evropy je výsledek modelu podobný dnešnímu stavu, předpokládané rozšíření je ještě mírně větší než dnes. Na druhou stranu široká oblast ve střední Evropě, panonské nížině a balkánském poloostrově podle modelu nebyla klimaticky vhodná k přežití kudlanek. Co je příčinou tohoto jevu, není známo.

Provedeno bylo rovněž modelování výskytu kudlanky nábožné v době posledního glaciálu (přibližně 20 000 let před dneškem). Výsledky toho modelování naznačují, že kudlanky mohly přežít v oblasti Španělska (oblast Katalánska), dále v jižní Itálii (oblast Apulie) a přilehlé oblasti Albánie (díky nižší hladině Jaderského moře). Rovněž některé středomořské ostrovy mohly poskytovat vhodné klima pro přežití kudlanek. Další oblasti, které byly označeny jako potenciální refugia, jsou ve východní části Evropy. Jedná se o jižní pobřeží Černého moře a východní pobřeží Středozemního moře. Oba klimatické modely (byly použity rovněž v článku Vilaça et al. (2014)) se v hrubých rysech shodují, ovšem model MIROC neoznačuje některé oblasti, především se jedná o lokality v Itálii a ostrovy Korsika a Mallorca.

5.4 Glaciální refugia a postglaciální šíření

Závěry o pozici glaciálních refugií a šíření po skončení glaciálu uvedené v práci Urbánková (2012) lze nyní porovnat na rozsáhlejší souboru dat. Ačkoliv nebylo provedeno datování štěpení linií, zdá se, že tři hlavní linie kudlanek odpovídají třem glaciálním refugiím. To podporují i provedené analýzy rozšíření v době posledního glaciálního maxima. Díky získání vzorků z krymského poloostrova lze vyloučit předchozí domněnku (Urbánková 2012), že se zde mohlo nacházet glaciální refugium. Tento závěr opět rovněž podporuje model Maxent. Potvrdit je možné refugium na balkánském poloostrově, není však jasné, jestli se ve skutečnosti nenacházelo v jižní Itálii, protože z této oblasti bohužel nebyl k dispozici dostatečný počet vzorků. Málo jedinců bylo k dispozici též z Pyrenejského poloostrova, a proto není možné učinit závěr o přesnější poloze případného refugia v této oblasti. Důležitým novým

poznatkem, který je ve shodě s výsledky získanými Linn a Griebeler (2015) je existence tzv. střeoevropské západní sublinie. Tento zajímavý fakt je možné vysvětlit v souladu s úvahami Aspöck (2008). Provedený klimatický model rozšíření potvrzuje, že se v této době kudlanky vyskytovaly na širokém území západní Evropy. Podle úvah Aspöck (2008) se při následném ochlazení klimatu rozšíření opět zmenšilo a přežily pouze populace v klimaticky vhodných lokalitách jihovýchodního Německa a přilehlé oblasti Francie. To podporuje zvýšená haplotypová diverzita v těchto oblastech. Pokud tedy právě v této oblasti uvízla populace střeoevropské linie, mohla zde přežít a vytvořit zmiňovanou samostatnou sublinii. V dnešní době jsme tak svědky opětovného šíření z této dlouhodobě existující zdrojové populace.

Porovnáním s třemi paradigmaty postglaciálního šíření (Hewitt 1999) lze shrnout, že *M. religiosa* nezapadá přesně do některého z modelů. Lze však vysledovat jisté tendence, které se rovněž vyskytují u jiných druhů. Podobně jako u sarančete *Ch. parallelus* se v postglaciální expanzi nejvýznamněji uplatnila linie balkánská, která kolonizovala především střední Evropu. Na druhou stranu kudlanky (podobně jako model ježek *Erinaceus* spp.) pravděpodobně dokázaly překonat pohoří Pyrenejí při expanzi z Pyrenejského poloostrova, protože se dnes vyskytují i ve Francii. Konečně, blízká příbuznost jedinců z Itálie a balkánského poloostrova a pravděpodobné refugium někde v oblasti východní Evropy naznačuje podobnou situaci jako u modelu medvěda hnědého (*U. arctos*).

6 Závěr

- Na základě fylogenetických analýz tří mitochondriálních genů se podařilo detekovat tři statisticky dobře podpořené linie kudlanek. Jedná se o linii východoevropskou, středoevropskou a západoevropskou. Nebyla nalezena samostatná linie z apeninského poloostrova, vzorky z Itálie spadají do linie středoevropské. Uvnitř středoevropské linie byl zjištěn klastér jedinců, kteří pocházejí z jihovýchodního Německa a několika francouzských lokalit.
- Rozdělení jedinců do tří hlavních skupin potvrdila rovněž haplotypová síť a analýza prostorové variance SAMOVA. Haplotypová diverzita na severní hranici dnešního rozšíření je nižší než v jeho centru. Společně se signifikantními výsledky provedených demografických testů to ukazuje na nově vznikající populace právě na severním okraji areálu a jeho recentní posun severním směrem.
- Byla ověřena funkčnost dříve navržených mikrosatelitových primerů a na základě testování sestaven jejich multiplex použitelný pro další studie.
- Analýza mikrosatelitů potvrdila výsledky získané na datech z mitochondriální DNA. Nebyla však zjištěna podpora pro existenci samostatné středoevropské západní sublinie.
- Bylo provedeno modelování v programu Maxent k odhadu klimaticky vhodných lokalit. Model pro období posledního glaciálu označuje jako příhodné lokality pro přežití kudlanek ostrovní a pobřežní oblasti Středozemního moře a rovněž pobřeží Černého moře. V těchto oblastech tedy mohla ležet glaciální refugia, ze kterých se kudlanky po skončení posledního glaciálu rozšířily po evropském kontinentu.

7 Literatura

Sekundární citace jsou označeny * před jménem prvního autora.

ASPÖCK, H., 2008. Postglacial formation and fluctuations of the biodiversity of Central Europe in the light of climate change. *Parasitology Research*. 12., roč. 103, č. S1, s. 7–10

ATTARD, C. R. M., HOLWELL, G. I., SCHWARTZ, T. S., UMBERS, K. D. L., STOW, A., HERBERSTEIN M. E. a BEHEREGARAY, L. B., 2009. Microsatellite markers for the praying mantid *Ciulfina rentzi* (Liturgusidae). *Molecular Ecology Resources*. roč. 9, č. 6, s. 1480–1482.

BANDELT, H., P., FORSTER a A., RÖHL, A., 1999. Median-joining networks for inferring intraspecific phylogenies. *Molecular biology and evolution*. roč. 16, č. 1, s. 37–48.

BANDELT, H., FORSTER P. a RÖHL, A., 2015. *Free Phylogenetic Network Software* [online]. Dostupné z: <http://fluxus-engineering.com/>

BATTISTI, A., STASTNY, M., NETHERER, S., ROBINET, C., SCHOPF, A., ROQUES A. a LARSSON, S., 2005. Expansion of geographic range in the pine processionary moth caused by increased winter temperatures. *Ecological applications*. roč. 15, č. 6, s. 2084–2096.

BATTISTON, R., L. PICCIAU, P. FONTANA a J. MARSHALL, 2010. *Mantids of the Euro-Mediterranean area*. Verona: WBA Handbooks.

BATTISTON, R. a FONTANA P., 2010. Colour change and habitat preferences in *Mantis religiosa*. *Bulletin of Insectology*. roč. 63, č. 1, s. 85–89.

BAZYLUK, W., 1960. Die geographische Verbreitung und Variabilität von *Mantis religiosa* (L.) (Mantodea, Mantidae), sowie Beschreibungen neuer Unterarten. *Annales Zoologici*. roč. 18, s. 231–272.

* BERG, M. K., SCHWARZ, C. J., MEHL, J. E., a CUNGS, J., 2011. *Gottesanbeterin*. Westarp Wissenschaften.

*BERGGREN, K. T., ELLEGREN, H., HEWITT, G., M., a SEDDON J., M., 2005. Understanding the phylogeographic patterns of European hedgehogs, *Erinaceus concolor* and *E. europaeus* using the MHC. *Heredity*. roč 95. č. 1, s. 84-90.

BÖHME, W., GEISSLER P. a WAGNER, P., 2011. A remarkable record of *Phaneroptera falcata* (Poda, 1761) (Saltatoria: Phaneropteridae) from north-eastern Poland. *Bonn Zoological Bulletin*. roč. 60, s. 109–111.

BRAY, S. C. E., AUSTIN, J. J., METCALF, J. L., ØSTBYE, K., ØSTBYE, E., LAURITZEN S.-E., AARIS-SØRENSEN, K., VALDIOSERA, C., ADLER C. J. a COOPER, A., 2013. Ancient DNA identifies post-glacial recolonisation, not recent

bottlenecks, as the primary driver of contemporary mtDNA phylogeography and diversity in Scandinavian brown bears. *Diversity and Distributions*. roč. 19, č. 3, s. 245–256.

BROWN, J. L., 2014. SDMtoolbox: a python-based GIS toolkit for landscape genetic, biogeographic and species distribution model analyses. *Methods in Ecology and Evolution*. roč. 5, č. 7, s. 694–700.

BUDRYS, E. a BUDRIEN, A., 2012. New records of three rare Orthoptera species from Lithuania. *New and rare for Lithuania insect species*. roč. 24, s. 49–51.

CHOBOT, K., 2016. Mapa rozšíření *Mantis religiosa* v České republice. In: Zicha O. (ed.) Biological Library – BioLib. Citováno 28.02.2016.
Dostupné na: <<http://www.biolib.cz/cz/taxonmap/id144/>>.

CLARK, P. U., DYKE, A. S., SHAKUN, J. D., CARLSON, A. E., CLARK, J., WOHLFARTH, B., MITROVICA, J. X., HOSTETLER S. W. a MCCABE, A. M., 2009. The last glacial maximum. *Science*. roč. 325, č. 5941, s. 710–714.

COHEN, K. M., FINNEY, S. C., GIBBARD P. L. a J.-X. FAN, 2013. The ICS international chronostratigraphic chart. *Episodes*. roč. 36, č. 3, s. 199–204.

COOPER, S. J. B., K. M. IBRAHIM a G. M. HEWITT, 1995. Postglacial expansion and genome subdivision in the European grasshopper *Chorthippus parallelus*. *Molecular Ecology*. roč. 4, č. 1, s. 49–60.

*CORBET, Gordon Barclay., 1988. The family Erinaceidae: a synthesis of its taxonomy, phylogeny, ecology and zoogeography. *Mammal Review*. roč 18, č. 3: 117–172.

*ČAPUTA A., 1992. Kudlanka nábožná – Modlivka zelená – *Mantis religiosa* (Linné, 1758), pp. 69–70. In: ŠKAPEC L. (ed.): *Červená kniha ohrožených a vzácných druhů rostlin a živočichů ČSFR 3*. [Red book of endangered and rare species of plants and animals of Czechoslovakia. Vol. 3.]. Příroda, Bratislava.

DAKIN, E., E., a J., C., AVISE, 2004. Microsatellite null alleles in parentage analysis. *Heredity*. roč. 93, č. 5, s. 504–509.

DICK, Christopher W., David W. ROUBIK, Karl F. GRUBER a Eldredge BERMINGHAM, 2004. Long-distance gene flow and cross-Andean dispersal of lowland rainforest bees (Apidae: Euglossini) revealed by comparative mitochondrial DNA phylogeography: PHYLOGEOGRAPHY OF EUGLOSSINE BEES. *Molecular Ecology*. roč. 13, č. 12, s. 3775–3785.

DRAG, Lukas, David HAUCK, Sándor BÉRCES, Jakub MICHALCEWICZ, Lucija ŠERIĆ JELASKA, Sandra AURENHAMMER a Lukas CIZEK, 2015. Genetic differentiation of populations of the threatened saproxylic beetle *Rosalia longicorn*, *Rosalia alpina* (Coleoptera: Cerambycidae) in Central and South-east Europe. *Biological Journal of the Linnean Society*. roč. 116, č. 4, s. 911–925.

- DUPANLOUP, Isabelle, Stefan SCHNEIDER a Laurent EXCOFFIER, 2002. A simulated annealing approach to define the genetic structure of populations. *Molecular Ecology*. roč. 11, č. 12, s. 2571–2581.
- ELITH, Jane, Michael KEARNEY a Steven PHILLIPS, 2010. The art of modelling range-shifting species: The art of modelling range-shifting species. *Methods in Ecology and Evolution*. roč. 1, č. 4, s. 330–342.
- EMERSON, B. C., P. OROMI a G. M. HEWITT, 2000. Tracking colonization and diversification of insect lineages on islands: mitochondrial DNA phylogeography of *Tarphius canariensis* (Coleoptera: Colydiidae) on the Canary Islands. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*. roč. 267, č. 1458, s. 2199–2205.
- EVANNO, G., S. REGNAUT a J. GOUDET, 2005. Detecting the number of clusters of individuals using the software structure: a simulation study. *Molecular Ecology*. roč. 14, č. 8, s. 2611–2620.
- EXCOFFIER, Laurent a Heidi EL LISCHER, 2010. Arlequin suite ver 3.5: a new series of programs to perform population genetics analyses under Linux and Windows. *Molecular Ecology Resources*. roč. 10, č. 3, s. 564–567.
- FARACHE, Fernando H. A., Astrid CRUAUD, Gwenaëlle GENSON, Rodrigo A.s. PEREIRA a Jean-Yves RASPLUS, 2013. Taxonomic revision and molecular phylogeny of the fig wasp genus *Anidarnes* Bouček, 1993 (Hymenoptera: Sycophaginae). *Systematic Entomology*. roč. 38, č. 1, s. 14–34.
- FEDOR, Peter J. a Oto MAJZLAN, 2001. Distribution and infiltration of the tree Cricket *Oecanthus pellucens* (Scopoli, 1763) to unoriginal conditions in Slovakia. *BULLETIN-SOCIETE DES NATURALISTES LUXEMBOURGEOIS*. s. 103–108.
- FU, Yun-Xin, 1997. Statistical tests of neutrality of mutations against population growth, hitchhiking and background selection. *Genetics*. roč. 147, č. 2, s. 915–925.
- FU, Yun-Xin a Wen-Hsiung LI, 1993. Statistical tests of neutrality of mutations. *Genetics*. roč. 133, č. 3, s. 693–709.
- GODINHO, R., E.G. CRESPO a N. FERRAND, 2008. The limits of mtDNA phylogeography: complex patterns of population history in a highly structured Iberian lizard are only revealed by the use of nuclear markers. *Molecular Ecology*. roč. 17, č. 21, s. 4670–4683.
- HANÁK, František a Jiří HUDEČEK, 2001. Rozšíření kudlanky nábožné (*Mantis religiosa*) v českých zemích se zřetelem k jejímu šíření na střední Moravu a do Slezka. *Časopis Slezského Muzea Opava (A)*. roč. 50, s. 137–142.
- HANLEY, James A. a Barbara J. MCNEIL, 1982. The meaning and use of the area under a receiver operating characteristic (ROC) curve. *Radiology*. roč. 143, č. 1, s. 29–36.
- HARRY, M., M. SOLIGNAC a D. LACHAISE, 1998. Molecular evidence for parallel evolution of adaptive syndromes in fig-breeding *Lissocephala* (Drosophilidae). *Molecular Phylogenetics and Evolution*. roč. 9, č. 3, s. 542–551.

HEWITT, Godfrey, 1996. Some genetic consequences of ice ages, and their role in divergence and speciation. *Biological journal of the Linnean Society*. roč. 58, č. 3, s. 247–276.

HEWITT, Godfrey, 1999. Post-glacial re-colonization of European biota. *Biological Journal of the Linnean Society*. roč. 68, č. 1–2, s. 87–112.

HEWITT, Godfrey, 2000. The genetic legacy of the Quaternary ice ages. *Nature*. roč. 405, č. 6789, s. 907–913.

HEWITT, Godfrey, 2001. Speciation, hybrid zones and phylogeography—or seeing genes in space and time. *Molecular ecology*. roč. 10, č. 3, s. 537–549.

HICKLING, Rachael, David B. ROY, Jane K. HILL, Richard FOX a Chris D. THOMAS, 2006. The distributions of a wide range of taxonomic groups are expanding polewards. *Global Change Biology*. roč. 12, č. 3, s. 450–455.

HIDEG, J. I., 1996. Imbalances between the sexes in *Mantis religiosa* populations. *Entomologica Romanica*. roč. 1, s. 77–82.

HIJMANS, Robert J., Susan E. CAMERON, Juan L. PARRA, Peter G. JONES a Andy JARVIS, 2005. Very high resolution interpolated climate surfaces for global land areas. *International Journal of Climatology*. roč. 25, č. 15, s. 1965–1978.

HUELSENBECK, John P. a Fredrik RONQUIST, 2001. MRBAYES: Bayesian inference of phylogenetic trees. *Bioinformatics*. roč. 17, č. 8, s. 754–755.

CHAPUIS, M.-P. a A. ESTOUP, 2007. Microsatellite Null Alleles and Estimation of Population Differentiation. *Molecular Biology and Evolution*. roč. 24, č. 3, s. 621–631.

CHESEL, Daniel, A. DUFOUR a S. DRAY, 1995. ADE-4. *Ordination sous contraintes*. Université Lyon. Dostupné z: http://pbil.univlyon1.fr/ade4/article_rnews2004.php

CHLÁDEK, F., 1998. K současnému stavu rozšíření kudlanky nábožné (*Mantis religiosa* Linnaeus, 1758) na Moravě a poznámky k její biologii (Insecta, Mantoptera). *Tetrix*. roč. 1, s. 1–8.

IVINSKIS, Povilas a Jolanta RIMŠAITĖ, 2008. *Phaneroptera falcata* (Poda, 1761) (Orthoptera, Phaneropteridae) in Lithuania. *Acta Zoologica Lituanica*. roč. 18, č. 4, s. 270–272.

*JANŠTA P. 2006: Mantodea – Kudlanky, pp. 136-137. In: FARKAČ J., KRÁL D. & ŠKORPÍK M. (eds.): *Červený seznam ohrožených druhů České republiky. Bezobratlí. Red List of Threatened Species in the Czech Republic. Invertebrates*. Příroda (AOPK), Praha.

JANŠTA, Petr, Vladimír VRABEC, Jaroslav STRÁNSKÝ, Miroslav MIKÁT a Bohuslav MOCEK, 2008. The occurrence of the praying mantis (*Mantis religiosa*)(Mantodea: Mantidae) in central Bohemia and its distribution in the Czech Republic. *Klapalekiana*. roč. 44, s. 21-25.

JERMIIN, L. S. a R. H. CROZIER, 1994. The cytochrome b region in the mitochondrial DNA of the ant *Tetraponera rufoniger*: sequence divergence in Hymenoptera may be associated with nucleotide content. *Journal of Molecular Evolution*. roč. 38, č. 3, s. 282–294.

KEARSE, M., R. MOIR, A. WILSON, S. STONES-HAVAS, M. CHEUNG, S. STURROCK, S. BUXTON, A. COOPER, S. MARKOWITZ, C. DURAN, T. THIERER, B. ASHTON, P. MEINTJES a A. DRUMMOND, 2012. Geneious Basic: An integrated and extendable desktop software platform for the organization and analysis of sequence data. *Bioinformatics* roč. 28, č. 12, s. 1647–1649.

KIMURA, Motoo, 1980. A simple method for estimating evolutionary rates of base substitutions through comparative studies of nucleotide sequences. *Journal of molecular evolution*. roč. 16, č. 2, s. 111–120.

*KOČÁREK P. 2005: Řád Mantodea. The order Mantodea, s. 56-71. In: KOČÁREK P., HOLUŠA J. & VIDLIČKA L.: *Blattaria, Mantodea, Orthoptera & Dermaptera České a Slovenské republiky. Blattaria, Mantodea, Orthoptera & Dermaptera of the Czech and Slovak Republics*. Kabourek, Zlín.

KOČÁREK, P., Jaroslav HOLUŠA, Robert VLK, Pavel MARHOUL a Thomas ZUNAKRATKY, 2008. Recent expansions of the bush-crickets *Phaneroptera falcata* and *Phaneroptera nana* (Orthoptera: Tettigoniidae) in the Czech Republic. *Articulata*. roč. 23, č. 1, s. 67–75.

KOHN, M., F. KNAUER, A. STOFFELLA, W. SCHRÖDER a S. PÄÄBO, 1995. Conservation genetics of the European brown bear-a study using excremental PCR of nuclear and mitochondrial sequences. *Molecular Ecology*. roč. 4, č. 1, s. 95–104.

KOPELMAN, Naama M., Jonathan MAYZEL, Mattias JAKOBSSON, Noah A. ROSENBERG a Itay MAYROSE, 2015. Clumpak: a program for identifying clustering modes and packaging population structure inferences across K. *Molecular Ecology Resources* roč. 15, č. 5, s. 1179–1191.

KORKMAZ, E. Mahir, David H. LUNT, Battal ÇIPLAK, Naci DEĞERLİ a Hasan H. BAŞIBÜYÜK, 2014. The contribution of Anatolia to European phylogeography: the centre of origin of the meadow grasshopper, *Chorthippus parallelus*. *Journal of Biogeography*. roč. 41, č. 9, s. 1793–1805.

KOTLÍK, Petr, Valérie DEFFONTAINE, Silvia MASCHERETTI, Jan ZIMA, Johan R. MICHAUX a Jeremy B. SEARLE, 2006. A northern glacial refugium for bank voles (*Clethrionomys glareolus*). *Proceedings of the National Academy of Sciences*. roč. 103, č. 40, s. 14860–14864.

KUKLA, George J., Michael L. BENDER, Jacques-Louis DE BEAULIEU, Gerard BOND, Wallace S. BROECKER, Piet CLEVERINGA, Joyce E. GAVIN, Timothy D. HERBERT, John IMBRIE, Jean JOUZEL, Lloyd D. KEIGWIN, Karen-Luise KNUDSEN, Jerry F. MCMANUS, Josef MERKT, Daniel R. MUHS, Helmut MÜLLER, Richard Z. POORE, Stephen C. PORTER, Guy SERET, Nicholas J. SHACKLETON, Charles TURNER, Polychronis C. TZEDAKIS a Isaac J.

WINOGRAD, 2002. Last Interglacial Climates. *Quaternary Research*. roč. 58, č. 1, s. 2–13.

LANDECK, Ingmar, Conny EISER, Ingo LUDWIG a Gunther THÜMMEL, 2013. Zur aktuellen Verbreitung der Europä-ischen Gottesanbeterin, *Mantis religiosa* LINNAEUS, 1758 (Mantodea, Mantidae), im Land Brandenburg.

LANFEAR, Robert, Brett CALCOTT, Simon Y. W. HO a Stephane GUINDON, 2012. PartitionFinder: Combined Selection of Partitioning Schemes and Substitution Models for Phylogenetic Analyses. *Molecular Biology and Evolution*. roč. 29, č. 6, s. 1695–1701.

LEGENDRE, Frédéric, André NEL, Gavin J. SVENSON, Tony ROBILLARD, Roseli PELLENS a Philippe GRANDCOLAS, 2015. Phylogeny of Dictyoptera: Dating the Origin of Cockroaches, Praying Mantises and Termites with Molecular Data and Controlled Fossil Evidence. *PLOS ONE* roč. 10, č. 7.

LIANA, Anna, 2007. Distribution of *Mantis religiosa* (L.) and its changes in Poland. *Fragmenta Faunistica (Warsaw)*. roč. 50, č. 2, s. 91–125.

LIANA, Anna a Jakub MICHALCEWICZ, 2014. Meconema Meridionale Costa, 1860 (Orthoptera: Tettigonioidea: Meconematidae) – The First Record In Poland. *Polish Journal of Entomology*. roč. 83, č. 3.

LINN, Catherine Anne a Eva Maria GRIEBELER, 2015. Reconstruction of two colonisation pathways of *Mantis religiosa* (Mantodea) in Germany using four mitochondrial markers. *Genetica*. roč. 143, č. 1, s. 11–20.

LUNT, David H., Kamal M. IBRAHIM a Godfrey M. HEWITT, 1998. mtDNA phylogeography and postglacial patterns of subdivision in the meadow grasshopper *Chorthippus parallelus*. *Heredity*. roč. 80, č. 5, s. 633–641.

MIKÁT, Michael, 2014. *Socialní monogamie a rodičovská péče u včel rodu Ceratina*. Praha. Diplomová práce. Univerzita Karlova v Praze.

MILLER, M.A., W. PFEIFFER a T. SCHWARTZ, 2010. Creating the CIPRES Science Gateway for inference of large phylogenetic trees. In: *Gateway Computing Environments Workshop (GCE), 2010: Gateway Computing Environments Workshop (GCE), 2010* [online]. s. 1–8.

MOUSSON, Laurence, Catherine DAUGA, Thomas GARRIGUES, Francis SCHAFFNER, Marie VAZEILLE a Anna-Bella FAILLOUX, 2005. Phylogeography of *Aedes* (*Stegomyia*) *aegypti* (L.) and *Aedes* (*Stegomyia*) *albopictus* (Skuse) (Diptera: Culicidae) based on mitochondrial DNA variations. *Genetical Research*. roč. 86, č. 1, s. 1.

PAQUETTE, Sebastien Rioux, 2012. *PopGenKit: Useful functions for (batch) file conversion and data resampling in microsatellite datasets* [online]. Dostupné z: <http://CRAN.R-project.org/package=PopGenKit>

*PARMESAN, C., RYRHOLM, N., STEFANESCU, C., HILL, J., K., THOMAS, C., D., DESCIMON, H., HUNTLEY, B., KAILA, L., KULLBERG, J., TAMMARU, T.,

TENNENT, W., J., THOMAS, J., A. a WARREN, M., 1999. Poleward shifts in geographical ranges of butterfly species associated with regional warming. *Nature*. roč. 399, č. 6736, 579-583.

PARMESAN, Camille a Brian YOHE, 2003. A globally coherent fingerprint of climate change impacts across natural systems. *Nature*. roč. 421, č. 6918, s. 37-42.

PHILLIPS, Steven J., Robert P. ANDERSON a Robert E. SCHAPIRE, 2006. Maximum entropy modeling of species geographic distributions. *Ecological Modelling*. roč. 190, č. 3-4, s. 231-259.

POLZIN, Tobias a Siavash Vahdati DANESHMAND, 2003. On Steiner trees and minimum spanning trees in hypergraphs. *Operations Research Letters*. roč. 31, č. 1, s. 12-20.

PRITCHARD, Jonathan K., Matthew STEPHENS a Peter DONNELLY, 2000. Inference of population structure using multilocus genotype data. *Genetics*. roč. 155, č. 2, s. 945-959.

PROVAN, J a K BENNETT, 2008. Phylogeographic insights into cryptic glacial refugia. *Trends in Ecology & Evolution*. roč. 23, č. 10, s. 564-571.

PUPIŅŠ, Mihails, Mārtiņš KALNIŅŠ, Aija PUPIŅA a Ieva JAUNDALDERE, 2012. First records of European Mantid Mantis religiosa (Linnaeus, 1758) (Insecta: Dictyoptera, Mantidae) in Latvia. *Acta Biol. Univ. Daugavp.* roč. 12, s. 175-184.

R CORE TEAM, 2015. *R: A language and environment for statistical computing* [online]. Vienna, Austria: R Foundation for Statistical Computing. Dostupné z: <https://www.R-project.org/>

RAMBAUT, A., M. SUCHARD, W. XIE a A. DRUMMOND, 2014. *Tracer* [online]. Dostupné z: <http://tree.bio.ed.ac.uk/software/tracer/>

RAMBAUT, Andrew, 2012. *FigTree* [online]. Dostupné z: <http://tree.bio.ed.ac.uk/software/figtree/>

RANDI, E., L. GENTILE, G. BOSCAGLI, D. HUBER a H. U. ROTH, 1994. Mitochondrial DNA sequence divergence among some west European brown bear (*Ursus arctos* L.) populations. Lessons for conservation. *Heredity*. roč. 73, č. 5, s. 480-489.

REBELO, Hugo, Elsa FROUFE, José C. BRITO, Danilo RUSSO, Luca CISTRONE, Nuno FERRAND a Gareth JONES, 2012. Postglacial colonization of Europe by the barbastelle bat: agreement between molecular data and past predictive modelling: PHYLOGEOGRAPHY OF *B. BARBASTELLUS*. *Molecular Ecology*. roč. 21, č. 11, s. 2761-2774.

ROBINET, Christelle a Alain ROQUES, 2010. Direct impacts of recent climate warming on insect populations. *Integrative Zoology*. roč. 5, č. 2, s. 132-142.

- ROBINET, Christelle, Jérôme ROUSSELET a Alain ROQUES, 2014. Potential spread of the pine processionary moth in France: preliminary results from a simulation model and future challenges. *Annals of forest science*. roč. 71, č. 2, s. 149–160.
- ROGERS, Alan R. a Henry HARPENDING, 1992. Population growth makes waves in the distribution of pairwise genetic differences. *Molecular biology and evolution*. roč. 9, č. 3, s. 552–569.
- RONQUIST, F. a J. P. HUELSENBECK, 2003. MrBayes 3: Bayesian phylogenetic inference under mixed models. *Bioinformatics*. roč. 19, č. 12, s. 1572–1574.
- ROOT, Terry L., Jeff T. PRICE, Kimberly R. HALL, Stephen H. SCHNEIDER, Cynthia ROSENZWEIG a J. Alan POUNDS, 2003. Fingerprints of global warming on wild animals and plants. *Nature*. roč. 421, č. 6918, s. 57–60.
- ROUSSET, Francois, 2008. genepop'007: a complete re-implementation of the genepop software for Windows and Linux. *Molecular ecology resources*. roč. 8, č. 1, s. 103–106.
- SANTUCCI, F, B. C. EMERSON a G. M. HEWITT, 1998. Mitochondrial DNA phylogeography of European hedgehogs. *Molecular Ecology*. roč. 7, č. 9, s. 1163–1172.
- SEDDON, J. M., F. SANTUCCI, N. REEVE a G. M. HEWITT, 2002. Caucasus Mountains divide postulated postglacial colonization routes in the white-breasted hedgehog, *Erinaceus concolor*. *Journal of Evolutionary Biology*. roč. 15, č. 3, s. 463–467.
- SELKOE, Kimberly A. a Robert J. TOONEN, 2006. Microsatellites for ecologists: a practical guide to using and evaluating microsatellite markers. *Ecology Letters*. roč. 9, č. 5, s. 615–629.
- SEZONLIN, M., S. DUPAS, B. LE RÜ, P. LE GALL, P. MOYAL, P.-A. CALATAYUD, I. GIFFARD, N. FAURE a J.-F. SILVAIN, 2006. Phylogeography and population genetics of the maize stalk borer *Busseola fusca* (Lepidoptera, Noctuidae) in sub-Saharan Africa: PHYLOGEOGRAPHY OF THE MAIZE STALK BORER. *Molecular Ecology*. roč. 15, č. 2, s. 407–420.
- SCHMITT, Thomas a Zoltán VARGA, 2012. Extra-Mediterranean refugia: the rule and not the exception. *Front Zool*. roč. 9, č. 10.1186, s. 1742–9994.
- SIMON, CHRIS, FRANCESCO FRATI, ANDREW BECKENBACH, BERNIE CRESPI, HONG LIU a PAUL FLOOK, 1994. Evolution, Weighting, and Phylogenetic Utility of Mitochondrial Gene Sequences and a Compilation of Conserved Polymerase Chain Reaction Primers. *Annals of the Entomological Society of America*. roč. 87, č. 6, s. 651–701.
- SPROUL, John S., Derek. D. HOUSTON, Nicholas DAVIS, Emily BARRINGTON, Sun Yeong OH, R. Paul EVANS a Dennis K. SHIOZAWA, 2014. Comparative phylogeography of codistributed aquatic insects in western North America: insights into dispersal and regional patterns of genetic structure. *Freshwater Biology*. roč. 59, č. 10, s. 2051–2063.

STAMATAKIS, Alexandros, 2014. RAxML Version 8: A tool for Phylogenetic Analysis and Post-Analysis of Large Phylogenies. *Bioinformatics*.

STEVENS, Mark I., Francesco FRATI, Angela MCGAUGHRAN, Giacomo SPINSANTI a Ian D. HOGG, 2007. Phylogeographic structure suggests multiple glacial refugia in northern Victoria Land for the endemic Antarctic springtail *Desoria klovstadi* (Collembola, Isotomidae). *Zoologica Scripta*. roč. 36, č. 2, s. 201–212.

SVENSON, Gavin J. a Michael F. WHITING, 2004. Phylogeny of Mantodea based on molecular data: evolution of a charismatic predator. *Systematic Entomology*. roč. 29, č. 3, s. 359–370.

SVENSON, Gavin J. a Michael F. WHITING, 2009. Reconstructing the origins of praying mantises (Dictyoptera, Mantodea): the roles of Gondwanan vicariance and morphological convergence. *Cladistics*. roč. 25, č. 5, s. 468–514.

SWENSON, Jon E., Pierre TABERLET a Eva BELLEMAIN, 2011. Genetics and conservation of European brown bears *Ursus arctos*: Bear conservation genetics. *Mammal Review*. roč. 41, č. 2, s. 87–98.

TABERLET, Pierre a Jean BOUVET, 1994. Mitochondrial DNA polymorphism, phylogeography, and conservation genetics of the brown bear *Ursus arctos* in Europe. *Proceedings of the Royal Society of London B: Biological Sciences*. roč. 255, č. 1344, s. 195–200.

TABERLET, PIERRE, LUCA FUMAGALLI, ANNE-GABRIELLE WUST-SAUCY a JEAN-FRANCOIS COSSON, 1998. Comparative phylogeography and postglacial colonization routes in Europe. *Molecular ecology*. roč. 7, č. 4, s. 453–464.

TAJIMA, Fumio, 1989. Statistical method for testing the neutral mutation hypothesis by DNA polymorphism. *Genetics*. roč. 123, č. 3, s. 585–595.

TAMURA, K., G. STECHER, D. PETERSON, A. FILIPSKI a S. KUMAR, 2013. MEGA6: Molecular Evolutionary Genetics Analysis Version 6.0. *Molecular Biology and Evolution*. roč. 30, č. 12, s. 2725–2729.

THEISSINGER, Kathrin, Miklós BÁLINT, Kevin A. FELDHEIM, Peter HAASE, Jes JOHANNESSEN, Irina LAUBE a Steffen U. PAULS, 2013. Glacial survival and post-glacial recolonization of an arctic-alpine freshwater insect (*Arcynopteryx dichroa*, Plecoptera, Perlodidae) in Europe. *Journal of Biogeography*. roč. 40, č. 2, s. 236–248.

THOMAS, J. A., M. G. TELFER, D. B. ROY, C. D. PRESTON, J. J. D. GREENWOOD, J. ASHER, R. FOX, R. T. CLARKE a J. H. LAWTON, 2004. Comparative losses of British butterflies, birds, and plants and the global extinction crisis. *Science*. roč. 303, č. 5665, s. 1879–1881.

THOMPSON, Julie D., Desmond D. HIGGINS a Toby J. GIBSON, 1994. Clustal W: improving the sensitivity of progressive multiple sequence alignment through sequence weighting, position-specific gap penalties and weight matrix choice. *Nucleic Acids Research*. roč. 22, č. 22, s. 4673–4680.

TRNKA, Filip a Stanislav RADA, 2015. Grasshoppers, crickets (Orthoptera) and earwigs (Dermaptera) of Tovačov gravel pit (central Moravia, Czech Republic): New locality for several thermophilous species in anthropogenic secondary habitat. *Acta Musei Silesiae, Scientiae Naturales*. roč. 64, č. 3, s. 199–205.

URBÁNKOVÁ, Hana, 2012. *Fylogeografie kudlanky nábožné (Mantis religiosa) ve střední Evropě*. Praha. Diplomová práce. Univerzita Karlova v Praze.

VALDIOSERA, Cristina E., Nuria GARCÍA, Cecilia ANDERUNG, Love DALÉN, Evelyn CRÉGUT-BONNOURE, Ralf-Dietrich KAHLKE, Mathias STILLER, Mikael BRANDSTRÖM, Mark G. THOMAS, Juan Luis ARSUAGA, Anders GÖTHERSTRÖM a Ian BARNES, 2007. Staying out in the cold: glacial refugia and mitochondrial DNA phylogeography in ancient European brown bears. *Molecular Ecology*. roč. 16, č. 24, s. 5140–5148.

VEGA, R., G., AMORI, Gaetano ALOISE, Simonetta CELLINI, Anna LOY a Jeremy B. SEARLE, 2010. Genetic and morphological variation in a Mediterranean glacial refugium: evidence from Italian pygmy shrews, *Sorex minutus* (Mammalia: Soricomorpha). *Biological Journal of the Linnean Society*. roč. 100, č. 4, s. 774–787.

*VIDLIČKA Ľ., 2001: *Fauna Slovenska. Blattaria – šváby, Mantodea – modlivky (Insecta: Orthopteroidea)*. [Fauna of Slovakia. Blattaria – Cockroaches, Mantodea – Mantids (Insecta: Orthopteroidea)]. Veda, Bratislava.

VILAÇA, S., T., D., BIOSA, F., ZACHOS, L., IACOLINA, J., KIRSCHNING, P., C. ALVES, L., PAULE, C., GORTAZAR, Z., MAMURIS, B., JĘDRZEJEWSKA, T., BOROWIK, V., E. SIDOROVICH, J., KUSAK, S., COSTA, L., SCHLEY, G., B. HARTL, M., APOLLONIO, G., BERTORELLE a M., SCANDURA, 2014. Mitochondrial phylogeography of the European wild boar: the effect of climate on genetic diversity and spatial lineage sorting across Europe. *Journal of Biogeography*. roč. 41, č. 5, s. 987–998.

VILLESEN, P., 2007. FaBox: an online toolbox for fasta sequences. *Molecular Ecology Notes*. roč. 7, č. 6, s. 965–968.

VITÁČEK, J. a P. JANŠTA, 2016. Biogeografie a šíření kudlanky nábožné v Evropě. *Živa*. roč. 64, č. 2, s. 84–86.

VLK, R., O. BALVÍN, A., KRIŠTÍN, P., MARHOUL, V., HRÚZ a OTHERS, 2012. Distribution of the Southern Oak Bush-cricket *Meconema meridionale* (Orthoptera, Tettigoniidae) in the Czech Republic and Slovakia. *Folia oecologica*. roč. 39, s. 155–165.

WALTHER, G-R., E., POST, P., CONVEY, A., MENZEL, C., PARMESAN, T., JC BEEBEE, J-M. FROMENTIN, O., HOEGH-GULDBERG a F., BAIRLEIN, 2002. Ecological responses to recent climate change. *Nature*. roč. 416, č. 6879, s. 389–395.

WEBB, TIII a P. J. BARTLEIN, 1992. Global changes during the last 3 million years: climatic controls and biotic responses. *Annual review of Ecology and Systematics*. s. 141–173.

*WEIR, B. S., 1996. *Genetic data analysis II*. Sunderland: Sinauer Associates.

ZINK, R. M. a G. F. BARROWCLOUGH, 2008. Mitochondrial DNA under siege in avian phylogeography: nuDNA VS. mtDNA in phylogeography. *Molecular Ecology*. roč. 17, č. 9, s. 2107–2121.

8 Seznam příloh

Přílohy se nacházejí na přiloženém DVD, které obsahuje složky:

- Dataset_mtDNA – obsahuje vstupní soubory použité pro analýzy Maximum Likelihood a Bayes.
- RAxML – obsahuje výsledné fylogenetické stromy konstruované touto metodou.
- Bayes – obsahuje výsledné fylogenetické stromy konstruované touto metodou.
- Dataset_mikrosatelity – obsahuje vstupní soubor použitý pro analýzu mikrosatelitů.
- Structure – obsahuje výstupní soubory získané v programu Structure analýzou pro $K=2-7$ a grafickou vizualizaci výsledků.
- Maxent – obsahuje vstupní soubor pro analýzu v programu Maxent